

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

CAROLINA NEMETH COMPARATO

Estudo da oxidação de sulfeto via desnitrificação autotrófica e recuperação de enxofre elementar via coagulação-floculação-sedimentação

São Carlos

2019

CAROLINA NEMETH COMPARATO

Estudo da oxidação de sulfeto via desnitrificação autotrófica e
recuperação de enxofre elementar via coagulação-floculação-sedimentação

Monografia apresentada ao Curso de
Engenharia Ambiental, da Escola de
Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Engenheiro Ambiental

Orientadora: Dr^a. Renata de Bello Solcia
Guerrero

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos
2019

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

N736e	Nemeth Comparato, Carolina Estudo da oxidação de sulfeto via desnitrificação autotrófica e recuperação de enxofre elementar via coagulação-floculação-sedimentação / Carolina Nemeth Comparato; orientadora Renata de Bello Solcia Guerrero. São Carlos, 2019.
	Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2019.
	1. Desnitrificação autotrófica. 2. Sulfeto. 3. Pós-tratamento. 4. Recuperação de enxofre elementar. 5. Tanino. 6. Policloreto de alumínio. 7. Parâmetros cinético. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): **Carolina Nemeth Comparato**

Data da Defesa: 01/11/2019

Comissão Julgadora:

Resultado:

Renata de Bello Solcia Guerrero (Orientador(a))

Aprovada

Adriana Ferreira Maluf Braga

Aprovada

Márcia Helena Rissato Zamariolli Damianovic

Aprovada



Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

*A minha família, pelo carinho
incondicional.*

AGRADECIMENTOS

À minha família, presente sempre em meu coração, que me apoiou, incentivou e acreditou em mim. São os alicerces do que sou hoje, e por isso sempre serei grata.

À Renata de Bello Solcia Guerrero pela confiança e compreensão, por orientar esse trabalho com tanta dedicação e empenho.

Ao professor Marcelo Zaiat pelos ensinamentos, sugestões e auxílios nos momentos de maiores dificuldades.

À professora Márcia Helena Rissato Zamariolli Damianovic e a Adriana Ferreira Maluf Braga pela imensa gentileza e disposição, às correções discussões e ensinamentos que muito agregaram a este trabalho.

À minha vó, Idinha, por ser a pessoa mais doce e maravilhosa que eu poderia conhecer. Por dedicar sua vida em dar o amor que essa família carrega. Sua alegria é a nossa maior herança.

À Duda, minha irmã, que esteve comigo desde as primeiras palavras lidas e comemorando comigo na monografia aprovada. Por me ensinar que apesar de qualquer coisa, somos capazes de escolher a quem amar. Quem diria que me ensinar o be-a-ba daria nisso?

Ao João Pedro, por apenas existir e Kiq por entrar nessa família meio doida e me acolher como parte de sua.

Ao Vicente, Celia Mylenna, Alyne e Elyssa pelo acolhimento e carinho.

À Isabel, Carol e Janja que me auxiliaram nas fases experimentais deste trabalho com muita disposição e paciência. Aos colegas do LPB, em especial à Williane, Lucas, Guilherme e Jean pelas ajudas, dicas e toda a disposição.

Aos colegas da Bioproj, especialmente o Fejuca, pela compreensão nesse momento tão atribulado.

À Emilly e Roger, pelos momentos de diversão e amizade. Esquecer dos problemas com vocês sempre me fez lembrar do quão divertida a vida pode ser.

À Edi, pela amizade tão gostosa. Obrigada por todos esses anos de amizade. Se eu tivesse um irmão, queria que ele fosse você.

Às queridas amigas Joici (com i) e Mizão, verdadeiros anjos que apareceram em minha vida. Obrigada pelo incentivo e pelas broncas, pelos mimos e grande amizade. São Carlos continuou sendo um lar com vocês.

Ao Thiago e Elvira, sempre presentes em demonstrar um afeto tão genuíno e sincero.

À Thais, minha amiga meio doidinha mas que sempre me trouxe muitas felicidades e momentos de pura descontração. Continue sempre doidinha e espalhe sua alegria pelo mundo.

À Lets, a irmã que a vida me presenteou, e Taísa, uma das pessoas que mais admiro nesse mundo, pelo carinho e amizades sinceras. Por estarem ao meu lado em todos os momentos nessa caminhada, por tornarem ela mais leve e me fazerem acreditar no amor. Amo vocês para sempre.

Ao Toni, com quem dividi tantos momentos lindos, que guardo comigo para sempre. Você foi meu amigo e companheiro nessa caminhada, me doando todo seu amor e carinho, e por isso só tenho a te agradecer. Você sempre terá morada em mim independente de onde a vida nos leve.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro à essa pesquisa quando iniciação científica.

À todos que tornaram esta trajetória possível.

RESUMO

COMPARATO, C. N. **Estudo da oxidação de sulfeto via desnitrificação autotrófica e recuperação de enxofre elementar via coagulação-floculação-sedimentação**. 86p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

Uma dificuldade que os sistemas anaeróbios de tratamento apresentam é a remoção de nutrientes do efluente, sobretudo compostos nitrogenados, de forma que atenda aos padrões de emissão estabelecidos em legislação. Dessa forma faz-se necessária a utilização de técnicas de pós tratamento que permitam a adequação destes efluentes. Visto que técnicas capazes de aproveitar compostos produzidos em etapas anteriores do tratamento ao invés de adicionar matéria orgânica externa, comumente realizada em efluentes oriundos de sistemas anaeróbios, tem-se mostrado duplamente vantajoso do ponto de vista econômico e operacional. Assim a desnitrificação autotrófica vem sendo estudada como alternativa à remoção de nitrogênio de efluentes com o uso de sulfeto como doador de elétrons, a fim de se estabelecer parâmetros cinéticos da conversão do sulfeto a sulfato e/ou enxofre elementar. Além disso, a recuperação de compostos oriundos de efluentes vem se mostrando uma opção promissora para a obtenção de matéria prima. Foram realizados, portanto, ensaios em batelada, com o propósito de estabelecer os parâmetros cinéticos da oxidação de sulfeto via desnitrificação autotrófica e recuperação de enxofre elementar por meio do processo de coagulação/ floculação/ sedimentação com a utilização de tanino e policloreto de alumínio como coagulantes em ensaio jar test com planejamento fatorial completo. Os ensaios cinéticos demonstraram que a oxidação de sulfeto pode ser descrita por um modelo polinomial de primeira ordem para relações N/S de 0,4; 1,0 e 1,6, enquanto que a transferência de massa apresentou efeitos significativos na velocidade cinética de consumo de sulfeto apenas para a relação N/S 0,4. A análise de PCR-DGGE da biomassa utilizada nos reatores após ensaios cinéticos apresentou alta diversidade genética e moderada transição da dinâmica da população bacteriana. O planejamento fatorial completo para os ensaios em jar test para avaliação da recuperação de enxofre elementar possibilitou a análise da variação de parâmetros como velocidade lenta de agitação, concentração de coagulante e pH, sendo que a pesquisa experimental identificou os dois últimos como os mais significativos no processo de coagulação de enxofre elementar.

Palavras-chave: Cinética de oxidação do sulfeto; Pós-tratamento. Tanino; Policloreto de alumínio; Relação N/S; Planejamento fatorial completo.

ABSTRACT

COMPARATO, C. N. **Study of sulfide oxidation by autotrophic denitrification and elemental sulfur recovery by coagulation-flocculation-sedimentation.** 86p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

A difficulty that Anaerobic treatment systems show is the nutrients removal from effluent, especially nitrogenous compound, so that the emissions standard established in law be attended. Therefore, it is necessary to use aftertreatment techniques that allow the adequacy of these effluents. Appropriate techniques that utilize the compounds produced in the previous step and exclude the addition of external organic matter, which usually occurs in anaerobic effluents, have been doubly advantageous at economic and operational point of view. Therefore, autotrophic denitrification has been an alternative to nitrogen removal from the effluent using sulfide as an electron donor. This technique has been studied to obtain the kinetic parameters of conversion of sulfide to sulfate and / or elemental sulfur. In addition, the recovery of compounds from effluents has shown a promising option in obtaining raw materials. laboratory tests of denitrification in the presence of sulfide were carried out to evaluate potential employ of this compound as electron donor and the elemental sulfur recovery through coagulation/flocculation/sedimentation process using Tanino and PAC as coagulants in jar test. The kinetic tests have shown that sulfide oxidation can be a first order polynomial for N/S ratio 0,4.; N/S ratio 1,0 and N/S ratio 1,6, as long the mass transference has shown significative effects in sulfide consumption kinetic just to N/S ration 0,4. PCR-DGGE analysis after kinetic tests demonstrated high genetic diversity and a moderate transition of bacterial population dynamics. The complete factorial planning to elemental sulfur removal evaluation in jar test enables the parameters (slow mixing speed, coagulant concentration, pH) variation analysis, being that the experimental research has defined the coagulant concentration and pH as the most significant in the elemental sulfur coagulation process.

Keywords: Autotrophic denitrification. Sulfide. Aftertreatment. Elemental sulfur recovery. Tanino. PAC. Kinetic parameters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia. (Fonte: Pavlostathis & Giraldo-Gomez, 1991).....	38
Figura 2: Estados de oxidação do enxofre (Fonte: Camiloti, 2015).....	41
Figura 3: Ciclo biogeoquímico do enxofre. (Fonte: Etchebehere, 2005)	42
Figura 4: Estrutura molecular do tanino. Fonte: Di Bernardo (2002)	46
Figura 5: Concentração de sulfetos totais dissolvidos em função do tempo nos ensaios em batelada realizados com relação N/S inicial de (■) 0,4 (●) 1,0 e (▲) 1,6.....	55
Figura 6: Curvas ajustadas aos pontos experimentais para equação cinética de primeira ordem, referentes aos ensaios realizados com relação N/S de a) 0,4 (■) b) 1,0 (●) e c) 1,6 (▲).....	57
Figura 7: Perfil de velocidade específica inicial observada de consumo de sulfeto em função da relação N/S.....	58
Figura 8: Gel de DGGE obtido das matrizes de poliuretano nos ensaios cinéticos de desnitrificação autotrófica com uso de sulfeto como doador de elétrons para as relações N/S 0,4; 1,0 e 1,6.	62
Figura 9: Dendrograma de similaridade utilizando o coeficiente de Jaccard com tolerância de 5% para as relações N/S empregadas nos reatores em batelada com uso de sulfeto como doador de elétrons.....	63
Figura 10: Cinética da remoção da turbidez nos ensaios realizados com A) PAC e B) Tanino.:	69
Figura 11: Diagrama de Pareto do planejamento fatorial completo para a porcentagem de enxofre elementar recuperado utilizando A) PAC e B) Tanino	72
Figura 12: Valores observados versus valores preditos para a porcentagem de enxofre elementar recuperado utilizando A) PAC e B) Tanino.....	76
Figura 13: Superfície resposta da porcentagem de enxofre elementar recuperado em função do pH e concentração de coagulante utilizando A) PAC e B) Tanino	77
Figura 14: Curva de nível base da superfície resposta da recuperação de enxofre elementar em função da concentração de coagulante e pH utilizando Tanino.	78
Figura 15: Superfície resposta da porcentagem de enxofre elementar recuperado em função da concentração de coagulante e velocidade lenta utilizando A) PAC e B) Tanino	79
Figura 16: Superfície resposta da porcentagem de enxofre elementar recuperado em função do pH e velocidade lenta utilizando A) PAC e B) Tanino.	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Exemplos de bactérias oxidantes de enxofre.	43
Tabela 2: Propriedades do policloreto de alumínio – PAC.	47
Tabela 3: Composição de metais pesados no policloreto de alumínio.	48
Tabela 4: Tabela de análise de variância (ANOVA).	50
Tabela 5: Concentração inicial de nitrato e sulfeto nas diferentes condições experimentais. ...	52
Tabela 6: Parâmetros analisados ao final dos ensaios cinéticos de desnitrificação autotrófica em batelada.	55
Tabela 7: Parâmetros cinéticos e coeficientes de correlação (R^2) obtidos com diferentes tipos de ajuste.	56
Tabela 8: Parâmetros cinéticos intrínsecos e seus respectivos coeficientes de correlação (R^2) e velocidade específica de utilização do substrato observada (robs) obtido para cada relação N/S empregada.	58
Tabela 9: Porcentagem de enxofre oxidado por vias diferentes da desnitrificação autotrófica por meio de balanço de massa.	60
Tabela 10: Parâmetros adimensionais para avaliação da magnitude dos efeitos de transferência de massa para as três relações N/S avaliadas empregando sulfeto como doador de elétrons. ..	61
Tabela 11: Diversidade metabólica (índice de Shannon) de dominância (índice de Simpson) e equitabilidade de Pielou da população microbiana utilizada nos ensaios cinéticos em diferentes relações N/S.	63
Tabela 12: Características do policloreto de alumínio utilizado nos ensaios <i>jar test</i>	64
Tabela 13: Níveis para os fatores e seus valores codificados para o ensaio Jar Test utilizando o PAC.	66
Tabela 14: Níveis para os fatores e seus valores codificados para o ensaio Jar Test utilizando o Tanino.	66
Tabela 15: Planejamento Fatorial Completo com matriz das variáveis independentes codificadas e reais e variáveis resposta para os ensaios utilizando PAC.	67
Tabela 16: Planejamento Fatorial Completo com matriz das variáveis independentes codificadas e reais e variáveis resposta para os ensaios utilizando Tanino.	68
Tabela 17: Efeitos Estimados do planejamento fatorial completo para a porcentagem de enxofre elementar recuperada utilizando PAC.	71
Tabela 18: Efeitos Estimados do planejamento fatorial completo para a porcentagem de enxofre elementar recuperada utilizando Tanino.	71
Tabela 19: Resultados da análise de regressão para pH, concentração de coagulante e velocidade lenta para a porcentagem de enxofre elementar recuperado utilizando PAC como coagulante.	73
Tabela 20: Resultados da análise de regressão para pH, concentração de coagulante e velocidade lenta para a porcentagem de enxofre elementar recuperado utilizando Tanino como coagulante.	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANAMMOX	–	<i>Anaerobic Ammonium Oxidation</i>
ANOVA	–	<i>Analysis of variance</i>
BBD	–	Planejamento BOX-Behnken
Bi	–	Número de Biot
C _a	–	Concentração do composto a
CANON	–	<i>Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite</i>
CCD	–	Planejamento Composto Central
D _e	–	Difusividade efetiva do substrato [L] ² .[T] ⁻¹
DGGE	–	<i>Denaturing Gradient Gel Electrophoresis</i>
D _L	–	Difusividade do substrato na fase líquida [L] ² .[T] ⁻¹
DNA	–	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
dp	–	Diâmetro da esfera equivalente [L]
DSMZ	–	<i>German Collection of Microorganisms and Cell Cultures</i>
H ₂ S	–	Sulfeto de hidrogênio
HCO ₃ ⁻	–	Bicarbonato
J _D	–	Fator de Colburn
k ₀	–	Constante cinética de ordem zero [T] ⁻¹
k ₁	–	Constante cinética de primeira ordem [T] ⁻¹
k ₂	–	Constante cinética de segunda ordem [T] ⁻¹
k _n	–	Constante cinética específica de ordem n [T] ⁻¹
k _S	–	Coefficiente de transferência de massa líquido-sólido [L] ³ .[T] ⁻¹
mmol	–	Milimolar
MQ _{ep}	–	Média quadrática do erro puro
MQ _{faj}	–	Média quadrática do erro devido à falta de ajuste
MQ _R	–	Média quadrática devido à regressão
MQ _r	–	Média quadrática residual
N-NH ₄ ⁺	–	Nitrogênio na forma amoniacal
N-NO ₂ ⁻	–	Nitrogênio na forma de nitrito
N-NO ₃ ⁻	–	Nitrogênio na forma de nitrato
PAC	–	Policloreto de alumínio
PCR	–	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
r _a	–	Velocidade de reação do composto a

R_{ep}^*	–	Número de Reynolds de partícula modificado
R_p	–	Raio da biopartícula [L]
S^0	–	Enxofre elementar
S^{2-}	–	Sulfeto na forma iônica
Sc	–	Número de Schimidt
Sh	–	Número de Sherwood
SHARON	–	<i>Single Reactor High Activity Ammonia Removal Over Nitrite</i>
SQ_{ep}	–	Soma quadrática do erro puro
SQ_{faj}	–	Soma quadrática do erro devido à falta de ajuste
SQ_R	–	Soma quadrática devido à regressão
SQ_r	–	Soma quadrática residual
SQ_T	–	Largura de banda de fissuras
$S-SO_4^{2-}$	–	Enxofre na forma de sulfato
t	–	Tempo
UASB	–	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>
V	–	Volume
ε	–	Porosidade do leito
η	–	Fator de efetividade
μ_L	–	Viscosidade do líquido [L] ² .[T] ⁻¹
ϕ_{obs}	–	Módulo de Thiele observado
ΔG^0	–	Energia livre de Gibbs

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	31
1.1 INTRODUÇÃO	31
1.2 OBJETIVOS	32
1.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	33
1.3.1 REATORES DESCONTÍNUOS	33
1.3.1.1 CINÉTICA DE REAÇÃO	33
1.3.1.2 TRANSFERÊNCIA DE MASSA	34
1.3.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA	37
1.3.3 PROCESSOS PARA REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO	39
1.3.4 VIAS METABÓLICAS DA OXIDAÇÃO DE SULFETO	41
1.3.5 MECANISMOS DE COAGULAÇÃO E FLOCULAÇÃO	44
1.3.5.1 COMPRESSÃO DA CAMADA DIFUSA	45
1.3.5.2 ADSORÇÃO E NEUTRALIZAÇÃO DE CARGAS	45
1.3.5.3 VARREDURA	45
1.3.5.4 ADSORÇÃO E FORMAÇÃO DE PONTES	45
1.3.6 COAGULANTES	46
1.3.6.1 TANFLOC SG	46
1.3.6.2 POLICLORETO DE ALÚMINIO (PAC)	47
1.3.7 PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO	48
1.3.8 TESTE DE SIGNIFICÂNCIA DO AJUSTE	48
CAPÍTULO 2 – DESNITRIFICAÇÃO AUTOTRÓFICA	51
2.1 MATERIAIS E MÉTODOS	51
2.1.1 BIOMASSA AUTOTRÓFICA DESNITRIFICANTE	51
2.1.2 MEIO DE CULTIVO	51
2.1.3 ENSAIO CINÉTICO EM BATELADA	52
2.1.4 ANÁLISE CINÉTICA	52
2.1.5 METODOLOGIA ANALÍTICA	52
2.1.6.1 ANÁLISES FÍSICO QUÍMICAS	52
2.1.6.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	53
2.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES	54
2.2.1 PARÂMETROS CINÉTICOS E DE TRANSFERÊNCIA DE MASSA	54

2.2.2 ANÁLISE DA DIVERSIDADE METABÓLICA DA COMUNIDADE BACTERIANA
61

CAPÍTULO 3 – RECUPERAÇÃO DE ENXOFRE	64
3.1 MATERIAIS E MÉTODOS	64
3.1.1 COAGULANTES	64
3.1.2 EFLUENTE	64
3.1.3 ENSAIOS EM “JAR TEST”	64
3.1.4 MÉTODOS ANALÍTICOS	65
3.1.5 PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO	65
3.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES	66
CAPÍTULO 4 - CONCLUSÃO.....	81
REFERÊNCIAS	82

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUÇÃO

Diversos tipos de indústrias são responsáveis pela presença de sulfeto em águas residuárias, como plantas petroquímicas, curtumes, atividades agrícolas e esgoto sanitário. Segundo Mahmood *et. al.* (2007), o sulfeto possui propriedades consideravelmente tóxicas à saúde humana quando liberado na atmosfera, sendo responsável por doenças cardiorrespiratórias.

Componentes nitrogenados, por sua vez, são encontrados em esgotos sanitários, insumos agrícolas e efluentes industriais. Sua presença no meio ambiente pode causar grandes danos aos ecossistemas, sobretudo aquático, devido a diminuição de oxigênio dissolvido, promovendo a anaerobiose, além do afloramento exacerbado de algas decorrente da eutrofização de corpos d'água.

A remoção de nitrogênio por meio da nitrificação autotrófica, seguida da desnitrificação heterotrófica, utilizando compostos orgânicos como doadores de elétrons, é a forma mais usual e difundida atualmente. Em reatores anaeróbios, largamente utilizados para tratamento sanitário no Brasil (CHERNICHARO, 2007), a concentração de matéria orgânica remanescente no efluente é muito baixa sendo necessária a adição de fontes externas de carbono, como metanol, etanol ou ácidos voláteis para o processo de desnitrificação, acarretando no aumento de custos do tratamento (MORAES, 2012).

Alternativas para esse tratamento vem surgindo com o objetivo de reduzir custos e reaproveitar substâncias com potencial de doar elétrons ao processo biológico, tal como a utilização de sulfeto como doador de elétrons às bactérias desnitrificantes capazes de oxidar compostos reduzidos de enxofre, realizando a redução de compostos nitrogenados (NO_2^- e NO_3^-) a nitrogênio gasoso (N_2) (MADIGAN, 2010). Esse processo mostra-se particularmente vantajoso uma vez que o processo de tratamento de águas residuárias tem como subproduto o sulfeto solúvel e o sulfeto de hidrogênio (H_2S) (MORAES, 2012). O reaproveitamento do sulfeto formado no tratamento anaeróbio de águas residuárias é uma forma sustentável de tratamento de efluentes com a obtenção de subprodutos importantes e com valor agregado, como o enxofre elementar.

Na desnitrificação autotrófica há a formação de enxofre elementar no efluente, que ainda pode ser recuperado por meio de processos físico-químicos, apresentando uma viabilidade

econômica de recuperação de matéria prima interessante no processo industrial. A tecnologia de recuperação de compostos em efluentes ainda é escassa, porém apresenta alto potencial para a redução da exploração convencional de matéria prima, minimizando os impactos oriundos de atividades extrativistas, além de representar uma economia significativa no processo produtivo.

Visto o quão recente são as pesquisas realizadas na área de desnitrificação associada à oxidação de sulfeto visando a recuperação de enxofre elementar, este estudo se mostra particularmente necessário.

Nesse contexto, reatores operados em batelada permitem um maior controle na relação entre doador (sulfeto) e receptor final de elétrons (nitrato), permitindo uma análise mais refinada da eficiência de remoção de compostos nitrogenados na presença do sulfeto, além de possibilitar a avaliação da formação de enxofre elementar, auxiliando na determinação da cinética de reação.

Diversos pesquisadores estudaram diferentes métodos para a recuperação de enxofre elementar biogênico, tais como a filtração em areia-extração-destilação (Li et al, 2000) e a flotação (Cao et al., 2002), no entanto, a sedimentação simples é o método mais barato e atrativo (Janssen et al., 1996) enquanto que a floculação e a sedimentação, objeto do presente estudo, podem alcançar uma maior eficiência de separação (Yuan et al., 2014b).

1.2 OBJETIVOS

Objetivos Gerais:

Avaliar a eficiência de formação de enxofre elementar via desnitrificação autotrófica utilizando sulfeto como doador de elétrons e sua recuperação através de processos físico-químicos,

Objetivos Específicos:

- Avaliar os padrões cinéticos de uma biomassa oxidante de compostos reduzidos de enxofre e redutora de nitrato na presença de diferentes relações N/S;
- Propor um modelo cinético para a oxidação de sulfeto via desnitrificação autotrófica;
- Avaliar a influência na diversidade microbiana provocada pelas diferentes relações N/S;
- Avaliar a eficiência do PAC e do Tanino na coagulação do enxofre elementar coloidal;
- Determinar as condições ótimas (concentração de coagulante, velocidade de agitação e pH) do processo de coagulação/floculação, sedimentação, utilizando a ferramenta estatística de planejamento experimental.

1.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.3.1 REATORES DESCONTÍNUOS

1.3.1.1 CINÉTICA DE REAÇÃO

Reatores descontínuos (ou em batelada) caracterizam-se pela simplicidade de sua operação, além de oferecer um elevado nível de controle. Os reagentes são colocados em um recipiente sob agitação para que a reação ocorra, sem fluxos de entrada e saída. Dessa forma sua utilização para o estudo de cinética das reações apresenta vantagens em relação à reatores contínuos, nos quais o balanço de massa e energia apresenta-se de forma mais complexa (LEVENSPIEL, 1999).

O balanço de massa de um reator em batelada isotérmico ideal com volume constante pode ser feito conforme o seguinte balanço:

$$\begin{array}{ccccccc} \text{Entrada de Matéria} & & \text{Saída de matéria} & & \text{Conversão de} & & \text{Acúmulo de} \\ \text{no Sistema} & - & \text{no sistema} & \pm & \text{matéria no} & = & \text{matéria no} \\ & & & & \text{sistema} & & \text{sistema} \end{array}$$

Considerando um reator em batelada os termos de entrada e saída de matéria no sistema são nulos. A conversão de matéria no sistema assume o valor positivo quando se trata da formação de um composto e negativo quando consumido, enquanto o acúmulo de matéria refere-se à variação da concentração de substrato em função do tempo. Em termos matemáticos tem-se o balanço de massa de acordo com as equações de 1 a 4:

$$-(-r_a V) = \frac{d(C_a V)}{dt} \quad [1]$$

$$-(-r_a) V = \frac{d(C_a V)}{dt} \quad [2]$$

$$r_a = V \frac{d(C_a)}{dt} + C_a \frac{dV}{dt} \quad [3]$$

$$r_a = -\frac{dC_a}{dt} \quad [4]$$

Em que:

r_a : velocidade de reação do composto a

V: volume

C_a : concentração do composto a

t: tempo

Considerando o modelo cinético com ordem n, a velocidade de reação para o consumo do composto a pode ser descrita de acordo com a equação 5:

$$r_a = -\frac{dc_a}{dt} = k_n C_a^n \quad [5]$$

Em que:

k_n : constante cinética de ordem n

n: ordem da reação

Admitindo a concentração inicial de a (C_{a0}) no tempo t_0 , a equação pode ser integrada conforme equação 6:

$$-\int_{C_{a0}}^{C_a} \frac{dC_a}{C_a^n} = k_n \int_{t_0}^t dt \quad [6]$$

As reações integradas podem ser expressas em termos de concentração de a como apresentado nas equações 7, 8 e 9 para as reações cinéticas de ordem zero, primeira e segunda ordem, respectivamente.

$$C_a = C_{a0} - k_0 (t - t_0) \quad [7]$$

$$C_a = C_{a0} - e^{k_1 (t-t_0)} \quad [8]$$

$$\frac{1}{C_a} = \frac{1}{C_{a0}} + k_2 (t - t_0) \quad [9]$$

Em que:

k_0 : constante cinética de ordem zero

k_1 : constante cinética de primeira ordem

k_2 : constante cinética de segunda ordem

1.3.1.2 TRANSFERÊNCIA DE MASSA

Para avaliação dos fenômenos físicos de transferência de massa sobre as velocidades de reação foram obtidos parâmetros adimensionais que relacionam as resistências externa e interna. Para o tratamento dos dados foram feitas as seguintes considerações: os cubos de espuma utilizado

nos ensaios equivale a uma partícula esférica de diâmetro de 1 cm; sistema isotérmico, fluxo unidirecional dos materiais no sentido do raio da biopartícula; e distribuição homogênea da biomassa na estrutura do biofilme.

O número de Biot (Bi) foi definido segundo a equação 10, afim de avaliar os efeitos das limitações impostas pela difusão externa à transferência de massa, relacionando a velocidade de transporte de massa na camada líquida estagnada ao redor da partícula com a velocidade de difusão intraparticular. O efeito da resistência externa à transferência de massa não é significativo para Bi superior a 100 (BAILEY; OLLIS, 1986)

$$Bi = \frac{k_s \times R_p}{D_e} \quad [10]$$

Onde:

k_s : coeficiente de transferência de massa líquido-sólido ($\text{cm}^3 \text{h}^{-1}$)

R_p : raio da biopartícula (cm^{-1})

D_e : difusividade efetiva do substrato ($\text{cm}^2 \text{h}^{-1}$)

O valor de k_s foi determinado por meio da correlação que associa propriedades físicas do líquido, características hidrodinâmicas do reator e geometria das biopartículas, conforme equação 11.

$$k_s = \frac{Sh \times D_L}{d_p} \quad [11]$$

Onde:

Sh : número de Sherwood

D_L : difusividade do substrato no meio líquido ($\text{cm}^2 \text{h}^{-1}$)

d_p : diâmetro da biopartícula

O número de Sherwood relaciona a transferência de massa por convecção com a transferência difusional no meio líquido. O número de Schmidt (Sc) relaciona as transferências de quantidade de massa, o número de Reynolds de partícula modificado (Re_p^*) baseia-se na área da seção transversal líquida do reator e o fator Colburn (J_D^*) relaciona o atrito superficial com a transferência de calor. Esses parâmetros foram determinados por meio das equações 12, 13, 14 e 15, respectivamente.

$$Sc = \frac{\mu_L}{D_L} \quad [12]$$

$$Re_p^* = \frac{v_s \times d_p}{(1 - \varepsilon) \times \mu_L} \quad [13]$$

$$J_D^* = \frac{0,25 Re_p^{*-0,31}}{\varepsilon} \quad [14]$$

$$J_D^* = 1,17 (Re_p^*)^{-0,415} \quad [15]$$

Onde:

μ_L : viscosidade do líquido

v_s : velocidade superficial de líquido considerando a área da seção líquida do reator

ε : porosidade do meio

O módulo de Thiele observado (ϕ_{obs}) foi definido segundo a equação 16 e representa a magnitude dos efeitos da resistência à transferência de massa intraparticular em relação às velocidades de reação. Valores de ϕ_{obs} superiores a 0,3 demonstram que a resistência interna à transferência de massa é significativa e a velocidade de difusão limita o processo (BRINGI; DALE, 1990).

$$\phi_{obs} = \sqrt{\frac{r_{obs} \times R_p^2}{9 \times D_e \times C}} \quad [16]$$

Onde:

r_{obs} : velocidade específica de consumo observada ($\text{mg L}^{-1} \text{s}^{-1}$)

C : concentração específica no meio líquido (mg L^{-1})

Foi determinado ainda o fator de efetividade (η) para cada modelo cinético ajustado e representa a razão entre a velocidade de consumo de substrato observada e a velocidade se não houvesse resistência à transferência de massa com o valor da concentração de substrato na fase líquida. Esse fator varia entre 0 e 1, sendo que valores próximos a 1 indicam que os processos de transferência de massa são muito rápidos em relação às reações e pode ser obtido por meio da equação 17:

$$\eta = \frac{1}{\phi} \left(\frac{1}{\text{tgh}(3\phi)} - \frac{1}{3\phi} \right) \left(\frac{Bi}{\frac{3\phi}{\text{tgh}(3\phi)} + Bi - 1} \right) \quad [17]$$

Dessa forma, as equações cinéticas em reatores em batelada e de transferência de massa podem ser utilizadas como uma ferramenta de análise de reações metabólicas microbiológicas em sistemas de tratamentos.

1.3.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA

O uso de sistemas anaeróbios para o tratamento de efluente tem sido amplamente utilizado nas últimas décadas no Brasil. O processo anaeróbio apresenta diversas vantagens, como baixo custo, simplicidade operacional e baixa produção de lodo em relação aos sistemas aeróbios convencionais (METCALF; EDDY, 2003). Nesse processo a matéria orgânica é degradada por microrganismos (bactérias e arqueias) anaeróbias, convertendo-a à metano, dióxido de carbono, sulfeto de hidrogênio e amônia, na ausência de oxigênio. Ao degradar a matéria orgânica os microrganismos extraem energia para seu crescimento celular.

Segundo Madigan (2016), a digestão anaeróbia pode ser dividida em quatro etapas: hidrólise, acidogênese/fermentação, acetogênese e metanogênese. Na primeira etapa, que ocorre de forma lenta, há a geração de monômeros como resultado da hidrólise de polímeros orgânicos complexos à compostos solúveis, realizado por enzimas hidrolíticas extracelulares produzidas e excretadas por bactérias hidrolíticas fermentativas. Essa etapa é fundamental para a absorção dos compostos presentes no efluente como fonte de energia ou nutriente por bactérias fermentativas (PAVLOSTATHIS; GIRALDOGOMEZ, 1991)

Na etapa de acidogênese há a degradação dos produtos solúveis oriundos da fase de hidrólise, os quais são metabolizados em ácidos graxos voláteis, sulfeto de hidrogênio, álcoois, cetonas, aldeídos, dióxido de carbono e ácidos orgânicos, além de novas células bacterianas (MADIGAN, 2016).

Na acetogênese, bactérias acetogênicas oxidam os produtos gerados na fase anterior gerando hidrogênio, dióxido de carbono e acetato, sob substrato apropriado para as metanogênicas.

Na metanogênese há a formação de metano, principalmente a partir do acetato por arqueias metanogênicas acetoclásticas, normalmente os microrganismos predominantes na digestão anaeróbia, e a partir da redução e dióxido de carbono por arqueias metanogênicas hidrogenofílicas. (CHYNOWETH e PULLAMMANAPPALLIL, 1996). A figura 1 representa as quatro etapas da digestão anaeróbia descritas e os grupos microbianos envolvidos.

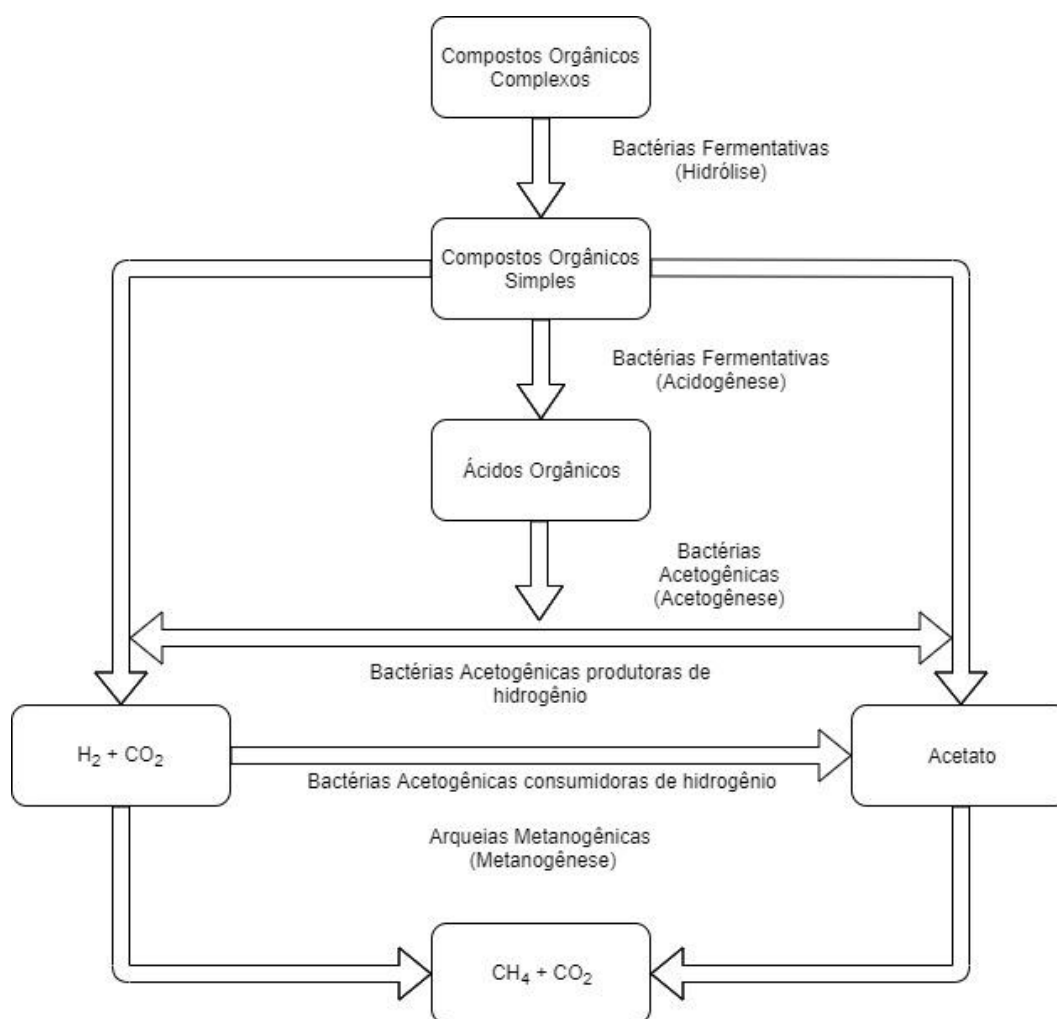


Figura 1: Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia.

(Fonte: Pavlostathis & Giraldo-Gomez, 1991)

Além dos processos descritos nessas etapas, cujos principais produtos são o metano e dióxido de carbono, nos sistemas anaeróbios ocorre a metabolização de compostos ricos em enxofre na presença de bactérias redutoras de sulfato. Segundo Jordão e Pessoa (2014) a presença de enxofre em esgoto sanitário deve-se em parte à presença de compostos de proteínas, como a tiamina, que em condições redutoras produz sulfeto de hidrogênio e à presença de detergentes sintéticos biodegradáveis, ricos em surfactantes. No esgoto sanitário o enxofre é transformado continuamente por meio de reações de oxi-redução (TSUTIYA, 2002).

Como desvantagem, os sistemas anaeróbios não são capazes de remover nitrogênio amoniacal total do efluente. Dessa forma, o pós-tratamento dos efluentes de reatores anaeróbios torna-se imprescindível (VON SPERLING, 1996). A remoção de compostos nitrogenados pode ser feita por meio de processos físico-químicos ou biológicos. Os processos microbiológicos para remoção de nitrogênio em efluente são os mais utilizados devido ao baixo custo associado à elevada eficiência.

Entre as dificuldades para a remoção de nitrogênio amoniacal após o tratamento anaeróbio destaca-se a baixa concentração de matéria orgânica presente no efluente, visto que o processo de desnitrificação heterotrófica demanda uma fonte de carbono orgânico. Além disso Henze et al. (1997) destaca diversos parâmetros importantes na cinética de remoção de compostos nitrogenados, entre eles a temperatura, pH, concentração e oxigênio dissolvido, fração de bactérias nitrificantes e desnitrificantes no sistema. Diversos processos biológicos, tanto tradicionais quanto alternativos, são empregados atualmente, visando o pós-tratamento, sobretudo após sistemas anaeróbios.

1.3.3 PROCESSOS PARA REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

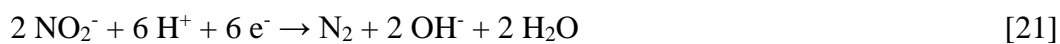
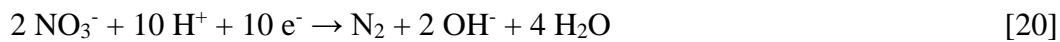
Nos sistemas convencionais a remoção biológica de nitrogênio ocorre em duas etapas: a nitrificação, processo autotrófico que oxida nitrogênio amoniacal à nitrato e nitrito num ambiente aeróbio, e desnitrificação, redução de nitrato a nitrogênio gasoso através de um processo heterotrófico, sob condições anóxicas.

Na nitrificação, bactérias aeróbias utilizam nitrogênio amoniacal como fonte de energia, dióxido de carbono como fonte inorgânica de carbono e oxigênio como receptor final de elétrons. As bactérias do gênero *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosovibrio* e *Nitrosolobus* realizam a oxidação de nitrogênio amoniacal à nitrito. A produção de nitrato é um processo acidificante com alto consumo de alcalinidade. Os gêneros *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrospina*, *Nitrococcus* e

Nitrocystis são responsáveis pelo processo de nitratação. Segundo Grady e Lim (1980) a nitrificação consome 8,62 mg de alcalinidade na forma de HCO_3^- para cada 1 mg de N-NH_4^+ removido, conforme as equações 18 e 19. Além disso, apresenta um elevado consumo de oxigênio, sendo necessário 4,33 mg de O_2 para a remoção de 1 mg de N-NH_4^+ .



A desnitrificação é realizada por bactérias heterotróficas que utilizam nitrato ou nitrito como receptor de elétrons e matéria orgânica como fonte de carbono. Segundo Metcalf e Eddy (2003) há predominância do gênero *Pseudomona* entre as desnitrificantes. As equações 20 e 21 apresentam a desnitrificação heterotrófica a partir do nitrato e nitrito, respectivamente, gerando nitrogênio gasoso, hidroxila e água. Portanto, parte da alcalinidade consumida na nitrificação é gerada na desnitrificação, numa relação de 1 equivalente grama de alcalinidade por mol de N reduzido (HENZE *et. al.*, 1997).



Processos menos convencionais para remoção de nitrogênio vêm ganhando destaque em pesquisas de tratamento de efluentes. Entre elas evidenciam-se o ANAMMOX, SHARON e CANON. O processo ANAMMOX (*Anaerobic Ammonium Oxidation*) é realizado em condições anaeróbias por meio da oxidação do íon amônio, utilizando como receptor de elétrons o nitrito (JETTEN *et al.*, 1999). Para a realização desse processo é necessário um pré-tratamento para a formação de nitrito em ambiente aeróbio, via nitrificação parcial.

O processo SHARON (*Single Reactor High Activity Ammonia Removal Over Nitrite*) propõe a remoção de nitrogênio em um único reator, combinando zonas aeróbias e anóxicas. Nesse processo há a necessidade de adição de fontes externas de carbono e o favorecimento de bactérias nitritantes através do aumento de temperatura no sistema (SCHMIDT *et al.*, 2003; SCHIMIDELL & VALLERO, 2007).

O CANON (*Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite*) é um processo completamente autotrófico realizado em condições de limitação de oxigênio, por meio de cooperação entre bactérias oxidantes de íon amônio e bactérias Anammox (JETTEN *et. al.*, 2003).

Outra forma de remoção de nitrogênio é a utilização de desnitrificação autotrófica, com o uso de compostos reduzidos de enxofre como doadores de elétrons. Essa alternativa tem se mostrado particularmente interessante em efluentes oriundos de tratamento anaeróbico, visto a alta concentração de nitrogênio amoniacal, sulfetos e baixas concentrações de matéria orgânica característica de efluente resultante desse tipo de tratamento (FORESTI et al., 2006).

1.3.4 VIAS METABÓLICAS DA OXIDAÇÃO DE SULFETO

O enxofre pode ser encontrado na natureza em nove estados de oxidação mas os mais comuns são -2 (sulfeto), 0 (enxofre elementar), +4 (sulfito), +6 (sulfato), os quais transformam-se entre si por meio de processos de oxidação e redução, que são realizadas tanto quimicamente quanto biologicamente (LENS e KUENEN, 2001). Naturalmente sua presença no meio se deve ao ciclo do enxofre, representado na Figura 2, que gera um acúmulo do elemento em seu estado sólido (CAMILOTI, 2015). De maneira antrópica o enxofre pode ser lançado ao ambiente, comumente na forma de sulfeto (S^{2-}) – forma mais estável e difundida dos compostos de enxofre, por meio de efluentes domésticos e indústrias, cuja concentração de S^{2-} possui grande variação, sobretudo nos efluentes industriais (LENS et al., 2001).

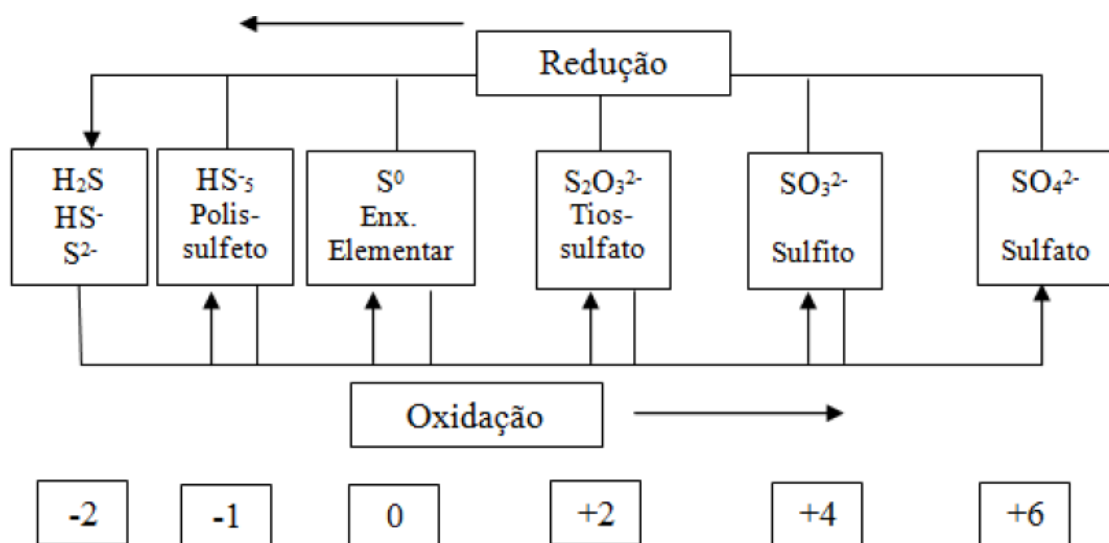


Figura 2: Estados de oxidação do enxofre (Fonte: Camiloti, 2015)

Apesar de sua importância para diversos organismos, como plantas, animais e microrganismos, o acúmulo de enxofre em recursos hídricos vem se tornando um problema de poluição ambiental. O sulfeto pode provocar acidez quando oxidado, além do desbalanceamento do ciclo biogeoquímico, possui mau odor característico, alta demanda de oxigênio e seu efeito corrosivo pode causar graves impactos econômicos, com a corrosão de tubulações, sociais, devido

a prejuízos causados à saúde humana, principalmente sistema nervoso e respiratório e ao ambiente com o desbalanceamento do ciclo (LENS et al., 2006).

A figura 3 representa o ciclo biogeoquímico do enxofre. Quando presente na água, ocorre primeiramente a redução dissimilatória. A formação de enxofre elementar pode ocorrer via oxigênio ou nitrato.

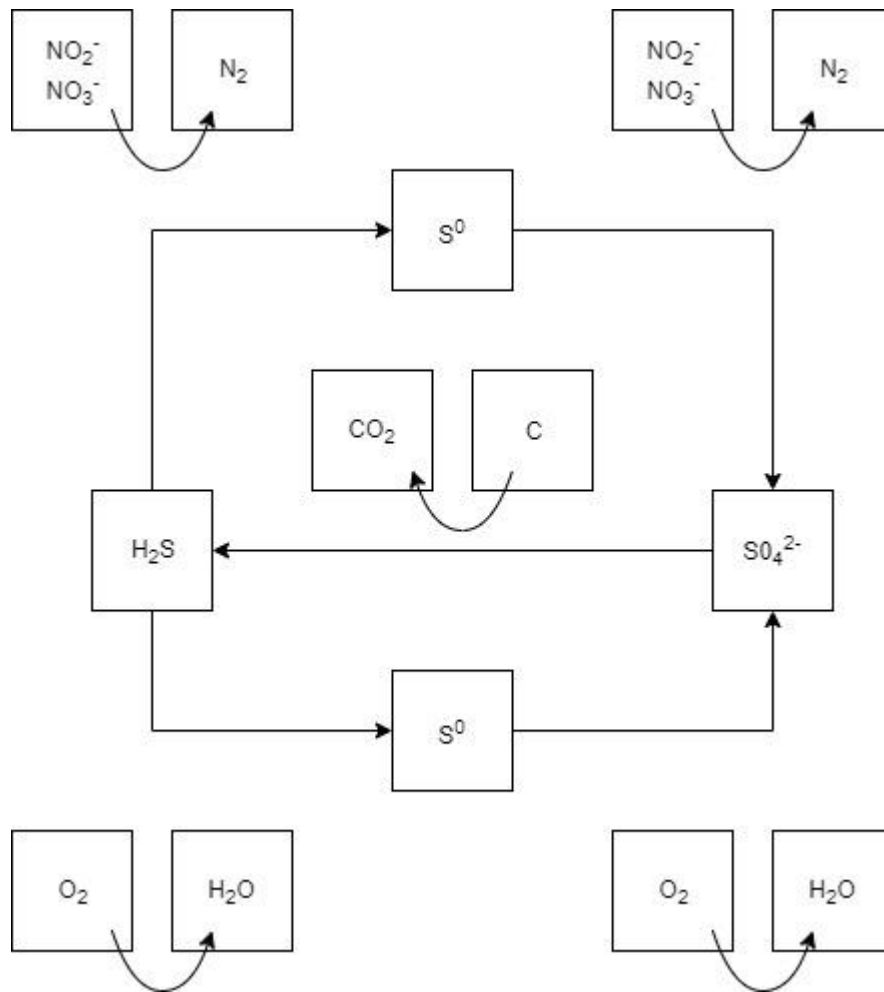


Figura 3: Ciclo biogeoquímico do enxofre. (Fonte: Etchebehere, 2005)

Segundo Zhang et. al (1999) a redução de nitrato utilizando sulfeto como doador de elétrons é realizado por bactérias oxidantes de enxofre que incluem diversos gêneros como *Acidithiobacillus*, *Achromatium*, *Thermothrix*, entre outros apresentados da Tabela 1. (MANCONI et al., 2007).

Tabela 1: Exemplos de bactérias oxidantes de enxofre.

Bactéria	Autotrofia	Substrato	pH ótimo
<i>Rhodobacter</i>	F	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	6,5 - 7,5
<i>Paracoccus versutus</i>	F	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	6,0 - 8,0
<i>Thiobacillus novellus</i>	F	S ₂ O ₃ ²⁻	6,0 - 8,0
<i>Thiobacillus thioparus</i>	O	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	6,0 - 8,0
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	O	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	6,8 - 7,4
<i>Thiomonas thermosulfatus</i>	F	S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	5,2 - 5,6
<i>Thiomonas cuprinus</i>	F	S ⁰	3,0 - 4,0
<i>Thiomonas intermedia</i>	F	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	5,5 - 6,0
<i>Beggiatoa</i>	F	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻	6,0 - 8,0
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	O	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	2,0 - 4,0
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	O	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	2,0 - 3,5
<i>Halothiobacillus halophilus</i>	O	S ₂ O ₃ ²⁻	7,0
<i>Halothiobacillus neapolitanus</i>	O	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	6,0 - 8,0
<i>Thiomicrospira</i>	O	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻	6,0 - 8,0
<i>Thiotrix nivea</i>	F	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	6,0 - 8,0
<i>Thiovulum</i>	O	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻	6,0 - 8,0
<i>Sulfurimonas denitrificans</i>	O	HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰	6,0 - 8,0

F: autótrofa facultativa; O: autótrofa obrigatório. Fonte: BRUSER; TRUPER ¹ (2004 *apud* SOLCIA, 2015); ROBERTSON; KUENEN ² (2006, *apud* SOLCIA, 2015); SYED et. al.³ (2006 *apud* SOLCIA, 2015)

Estes microrganismos podem ser classificados conforme a fonte de energia, sendo que os quimiolitotróficos, obrigatórios ou facultativo, utilizam uma fonte inorgânica para obtenção de energia e o oxigênio, quando aeróbias, como receptor final de elétrons. Em condições anaeróbias, os microrganismos oxidantes de enxofre atuam na desnitrificação de compostos nitrogenados utilizando nitrato e nitrito como receptor final de elétrons. De forma direta, esses microrganismos

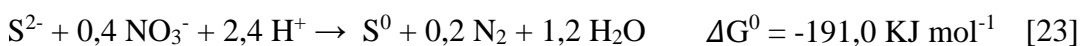
¹ BRUSER, T.; LENS, P. N. L.; TRUPER, H. G. The biological sulfur cycle. In: LENS, P.; HULSHOFF Pol, L. (Ed.). Environmental technologies to treat sulfur pollution: principles and engineering. London: IWA Publishing, 2004.

² ROBERTSON, L. A.; KUENEN, J. G. The colorless sulfur bacteria. In: DWORKIN, M.; FALKOW, S. et al. (Ed.). The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria. 3rd ed. New York: Springer-Verlag, 2006. Chap. 1.31, p. 885-1011

³ SYED, M.; SOREANU, G.; FALLETTA, P.; BELAND, M. Removal of hydrogen sulfide removal from gas streams using biological processes - a review. Canadian Biosystems Engineering, v. 48, p. 2.1-2.14, 2006.

utilizam o sulfeto como doador de elétrons, convertendo-o à enxofre elementar ou sulfato (MANCONI et al., 2007).

A utilização de sulfeto na desnitrificação autotrófica foi estudada por Beristain-Cardoso et al. (2006), em ensaios em batelada. Ao variarem a concentração de nitrato em 0, 1, 4 e 16 mM NO_3^- mantendo a concentração de sulfeto fixa em 2,5 mM S^{2-} observaram que a relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ determinou os produtos finais: para relações $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ superiores à 1,6 (concentração molar conforme equação 22) observou-se a formação de sulfato. Nos casos em que as concentrações de nitrato limitaram a reação, ou seja, relações menores que 1,6, houve a predominância de enxofre elementar, como demonstra a equação 23. Ao fixarem a concentração de NO_3^- em 8 mM NO_3^- e variarem a concentração de sulfeto em 2,5; 5; 7,5 e 10 mM S^{2-} , os autores observaram a redução da velocidade de reação para valores acima de 7,5 mM S^{2-} .



As equações 24 e 25 apresentam a desnitrificação incompleta, com a formação de nitrito via sulfato e enxofre elementar, respectivamente.



Nota-se que a desnitrificação autotrófica com a formação de sulfato (equação 22 e 24) é termodinamicamente mais favorável quando comparada à formação de enxofre elementar (equação 23 e 25), sobretudo via desnitrificação completa. Porém a oxidação à enxofre elementar apresenta a vantagem de possibilitar a sua recuperação, por meio de processos físicos, visto que se apresenta na forma insolúvel. Vale ressaltar que a formação de nitrito no meio pode ocasionar inibição metabólica, visto que o nitrito é um componente tóxico.

1.3.5 MECANISMOS DE COAGULAÇÃO E FLOCULAÇÃO

Grande parte das partículas coloidais possuem carga causando repulsão entre partículas similares, devido a sua característica de apresentarem grande área superficial específica, criando sítios carregados em sua superfície (SANTOS, 2006). A ação do coagulante é desestabilizar essas partículas, as neutralizando ou superando a força de repulsão entre elas, resultando em sua colisão

e crescimento. Durante a etapa de floculação (mistura lenta) os polímeros polieletrólitos a união dos coágulos para a formação de agregados ainda maiores. Segundo Scholz (2006) a redução na velocidade de agitação permite a suspensão e colisão dos flocos, evitando a quebra do agregado.

Segundo Amirtharajah. e Mills (1982), os mecanismos para desestabilização de partículas coloidais, cuja ocorrência se deve ao uso de diversos produtos químicos seguida por mistura rápida para sua homogeneização, são quatro: compressão da camada difusa, adsorção e neutralização de cargas, adsorção e formação de pontes e varredura.

1.3.5.1 COMPRESSÃO DA CAMADA DIFUSA

Causa a desestabilização de partículas coloidais por meio da adição de íons com carga contrária na solução (PAVANELLI, 2001), sendo que quanto maior a carga do íon positivo menor a quantidade requerida para coagulação, devido à grande concentração de cargas positivas que causam excesso de íons nessa camada, o que faz com que o volume de sua esfera para se manter eletricamente neutra seja reduzido, reduzindo seu potencial elétrico e faz com que a força de Van Der Waals predomine (DI BERNARDO, 1993).

1.3.5.2 ADSORÇÃO E NEUTRALIZAÇÃO DE CARGAS

A desestabilização é promovida por meio da adsorção de algumas espécies químicas na superfície de partículas coloidais que são de carga contrária às superfícies do coloide, o que requer dosagens de coagulante inferiores ao mecanismo de compressão de camada difusa (MENDES, 1989).

1.3.5.3 VARREDURA

Nesse mecanismo ocorre a formação de precipitados do tipo $\text{Al}(\text{OH})_3$ ou $\text{Fe}(\text{OH})_3$, dependendo da quantidade de coagulante adicionada, pH da mistura e concentração de alguns tipos de íons. Segundo Di Bernardo (1993) esse mecanismo possui como característica a formação de flocos maiores, o que contribui para uma maior velocidade de sedimentação, quando comparado aos mecanismos anteriores.

1.3.5.4 ADSORÇÃO E FORMAÇÃO DE PONTES

Envolve o uso de polímeros orgânicos de grandes cadeias moleculares que servem de ponte entre as superfícies em que estão aderidos e outras partículas (DI BERNARDO, 1993). Segundo Mendes (1989) esses polímeros podem ser naturais ou sintéticos e apresentar sítios ionizáveis ao longo de sua cadeia.

Os flocos formados após a desestabilização das partículas são resultantes das diversas forças de atração que atuam no meio. A velocidade da floculação está relacionada ao movimento contínuo e desordenado das partículas (movimento Browniano) e ao movimento devido a agitação mecânica do meio. Dessa forma é imprescindível a agitação mecânica num nível moderado, a fim de promover o encontro das partículas para formação dos flocos.

1.3.6 COAGULANTES

1.3.6.1 TANFLOC SG

O Tanfloc SG é um polímero catiônico de baixo peso molecular, pertencente ao grupo polihidroxifenólico específico, que pode ser utilizado como coagulante (Figura 4). Tem origem na lixiviação da casca de acácia negra (*Acácia mearnsii de wild*) (TANAC, 2013) de onde é extraído polifenóis, que se dividem em taninos, ligninas e polifenóis simples (SILVA, 1999) Segundo Martinez e Feltre (1996) o polímero extraído da madeira são ligninas e taninos condensados, gás metano, óxido de carbono e águas amoniacais. Possui a vantagem de ser orgânico, além da capacidade de aglutinar uma maior quantidade de materiais suspensos na água quando comparado a outros coagulantes semelhantes.

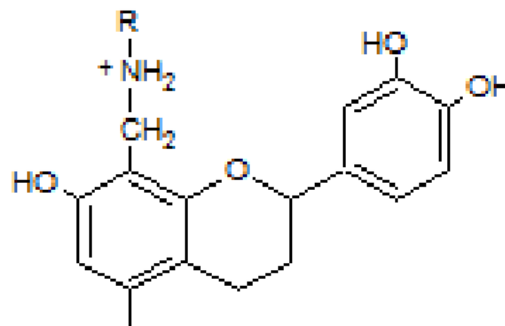


Figura 4: Estrutura molecular do tanino. Fonte: Di Bernardo (2002)

Segundo Martinez & Silva (1996), o tanino é capaz de unir espécies condensadas a cátions metálicos, formando quelatos, partículas estáveis, de caráter redutor e ácido, diluindo o metal. Dessa forma promove de forma eficaz a precipitação de cobre, ferro, cádmio, cromo, entre outros metais.

Seus principais tipos são: a) taninos hidrolisáveis, b) taninos condensados, c) taninos complexos e d) florotaninos, sendo o tanino condensado o mais utilizado como coagulante devido a sua viscosidade. Quanto a toxicidade, quando utilizado como coagulante não representa grande risco de contaminação, uma vez que dificilmente serão utilizadas grandes concentrações, porém

devido a sua capacidade de regular o crescimento e germinação de plantas atua como antimicrobianos (SILVA, 1999)

O tanino age como coagulante, neutralizando partículas coloidais e formando pontes entre estas. Segundo Silva (1999) o tanino não altera o pH da mistura, pois não consome alcalinidade e mostra-se eficaz numa faixa de pH de 4,5 a 8,0. Pode ser utilizado como coagulante ou ainda como auxiliar de coagulação em conjunto com outros agentes, como sulfato de alumínio e cloreto férrico.

1.3.6.2 POLICLORETO DE ALUMÍNIO (PAC)

O policloreto de alumínio é um sal de alumínio prepolimerizado de alto peso molecular, estrutura condensada com pontes de hidrogênio entre os átomos de alumínio e alta concentração de elemento ativo (Al_2O_3). Essas características fazem com que o PAC apresente vantagens na coagulação em relação a outros coagulantes inorgânicos (PAVANELLI, 2001).

Possui a fórmula bruta $Al_n(OH)_mCl_{3n-m}$, sendo que a relação $m/3n \times 100$ representa a basicidade do produto. O PAC provoca uma menor variação do pH, pois durante a hidrólise libera menos ácido quando comparado a coagulantes tradicionais, tais como o cloreto férrico e sulfato de alumínio, conforme Tabela 2. Possui ainda metais pesados em sua composição, como mostrado na Tabela 3.

Tabela 2: Propriedades do policloreto de alumínio – PAC.

Características e especificações	
Fórmula química	$Al_n(OH)_mO_{3n-m}$
aspecto	Líquido pouco viscoso
Cor	Amarelo - âmbar claro
Al_2O_3 (m/m - %)	16,8
Ferro (mg/kg)	50 máx.
Basicidade	42 – 46
Peso Específico	1,2 - 1,4
pH (sol 1% H_2O)	3,5 - 4,2

Fonte: Pavanelli (2001)

Tabela 3: Composição de metais pesados no policloreto de alumínio.

Metais Pesados	Valor típico (mg/kg)	Valor máximo (mg/kg)
Hg (mercúrio)	< 0,3	0,4
Cd (cádmio)	< 1,0	2,2
Ag (prata)	< 1,0	22
Pb (chumbo)	< 7,0	22
Cr (cromo)	< 3,0	22
As (arsênio)	< 0,3	22
Se (selênio)	< 4,0	4

Fonte: Pavanelli (2001)

1.3.7 PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO

O planejamento fatorial permite que duas ou mais variáveis independentes (fatores) sejam combinadas em todos os níveis, útil para medir os efeitos dos fatores na resposta de um processo, sendo a única maneira pela qual é possível prever a interação entre os fatores (CALADO & MONTGOMERY, 2003), além de determinar quais fatores tem efeitos relevantes na resposta.

A representação de um planejamento fatorial em dois níveis é 2^k , onde 2 representa o número de níveis e k o número de fatores. Segundo Calado & Montgomery (2003) utilizar mais de três níveis aumentaria demasiadamente o número de pontos experimentais, fato que justamente quer se evitar com o uso do planejamento fatorial.

Para a execução de um planejamento fatorial completo deve-se realizar os experimentos em todas as possíveis combinações de níveis e fatores, portanto o planejamento completo de dois níveis exige 2^k ensaios, ao menos. Caso o erro experimental queira ser estimado, os ensaios deverão ser realizados em duplicata, fator que aumenta o número de experimentos (BARROS NETO et. al., 2007).

Os dados obtidos podem então ser modelados por meio de uma equação para previsão da resposta em pontos diferentes dos testados, através de um modelo que apresente significância, preditividade e ajuste.

1.3.8 TESTE DE SIGNIFICÂNCIA DO AJUSTE

Os testes de significância são aplicados para aferir a qualidade gerada a partir dos dados utilizados (SILVA, 2008), analisando a significância estatística e ajuste do modelo proposto. Os

testes são baseados na análise da variância e requerem a obtenção das somas e médias dos quadrados dos desvios.

A partir das parcelas nas quais foi decomposta a variabilidade total do modelo constrói-se a Tabela 4, conhecida como tabela ANOVA. A partir da Tabela 4 pode-se analisar a significância e ajuste do modelo, por meio do teste F. Nesse teste, a razão entre as médias quadráticas são comparadas ao valor tabelado de $F_{\alpha, (p-1), (n-p)}$, sendo α o nível de significância fixado para um teste, e $(p-1)$ e $(n-p)$ são os números de graus de liberdade da soma quadrática devido à regressão e da soma quadrática residual, respectivamente. Caso o valor de $F_{\alpha, 1, n-2}$ seja menor que MQ_R/MQ_f pode-se afirmar que o modelo proposto possui significância estatística. Embora estatisticamente validada, a regressão pode se mostrar inútil para a realização de previsões, por cobrir uma faixa pequena de variação dos fatores analisado. Barros Neto et. al. (2007) sugerem que, para que isso não ocorra, o valor de $F_{\alpha, 1, n-2}$ deve ser no mínimo de dez vezes o valor de MQ_R/MQ_f . Dessa forma a regressão analisada é estatisticamente significativa e preditiva.

Por meio do teste F é possível ainda analisar o ajuste do modelo. Quanto menor a razão entre a média quadrática do erro devido à falta de ajuste e a média quadrática do erro puro (MQ_{faj}/MQ_{ep}) mais próximo é o valor observado da previsão. Para fins de comparação, se a razão MQ_{faj}/MQ_{ep} for menor que o $F_{\alpha, (m-p), (n-m)}$, sendo α o nível de significância fixado para um teste, e $(n-p)$ e $(n-m)$ são os números de graus de liberdade da soma quadrática devido à falta de ajuste e da soma quadrática devido ao erro puro, respectivamente, a regressão e, portanto, o modelo são ajustados.

Tabela 4: Tabela de análise de variância (ANOVA).

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Grau de liberdade Estatístico	Média Quadrática
Regressão	$SQR = \sum_i^m \sum_j^{ni} (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	(p - 1)	$MQR = \frac{SQR}{p - 1}$
Resíduos	$SQR = \sum_i^m \sum_j^{ni} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2$	(n - p)	$MQR = \frac{SQR}{n - p}$
Falta de Ajuste	$SQ_{faj} = \sum_i^m \sum_j^{ni} (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$	(m - p)	$MQ_{faj} = \frac{SQ_{faj}}{m - p}$
Erro Puro	$SQ_{ep} = \sum_i^m \sum_j^{ni} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	(n - m)	$MQ_{ep} = \frac{SQ_{ep}}{n - m}$
Total	$SQT = \sum_i^m \sum_j^{ni} (y_{ij} - \bar{y})^2$	(n-1)	
% de variação explicada	$\frac{SQ_R}{SQ_T}$		
% máxima de variação explicável	$\frac{SQ_T - SQ_{ep}}{SQ_T}$		

Fonte: De Barro Neto et. al., (2007)

Em que:

SQR: soma quadrática da regressão

SQR: soma quadrática dos resíduos

MQ_{faj} : média quadrática do erro devido à falta de ajuste

MQ_{ep} : média quadrática do erro puro

\hat{y} : o valor previsto

y: valor observado

ni: número de repetições no nível i

n: número total de observações

m: número de níveis distintos da variável independente

p: número de parâmetros do modelo

CAPÍTULO 2 – DESNITRIFICAÇÃO AUTOTRÓFICA

2.1 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1.1 BIOMASSA AUTOTRÓFICA DESNITRIFICANTE

Para a realização dos ensaios foi utilizada uma biomassa imobilizada sobre espuma de poliuretano obtida de um reator de desnitrificação autotrófica utilizando H_2S como doador de elétrons. Esse reator foi operado por mais de 6 meses e a composição da água residuária sintética alimentada no reator de nitrificação simulou efluentes de UASB que tratam esgoto doméstico.

2.1.2 MEIO DE CULTIVO

Para a realização dos ensaios de cinética de oxidação do sulfeto via desnitrificação autotrófica foi utilizado um meio de cultivo específico (DSMZ 113) recomendado pela DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures). A composição do referido meio está descrita a seguir: Solução A: 2,0 g de KH_2PO_4 ; 2,0 g de KNO_3 ; 1,0 g de NH_4Cl ; 0,8 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 2,0 mL de Solução de Elementos Traços SL-4, dissolvidos em solução tampão de fosfato pH 7,0 (1,43 g $\text{KH}_2\text{PO}_4 \text{ L}^{-1}$ e 7,47 g $\text{K}_2\text{HPO}_4 \text{ L}^{-1}$) a um volume final de 940 mL (FAJARDO *et al.*, 2014). O pH foi ajustado a 7,0 com NaOH. Solução B: 5 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ dissolvido com água destilada a um volume final de 40 mL. Solução C: 1,0 g de NaHCO_3 dissolvido com água destilada a um volume final de 20 mL. Solução D: 0,002 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ dissolvido em 1 mL de H_2SO_4 (0,05 M). No momento do uso foram misturadas 940 mL da Solução A, 20 mL da Solução C e 1 mL da Solução D. A solução de elementos traços SL-4 foi composta por: EDTA (0,5 g L^{-1}), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,2 g L^{-1}) e solução de elementos traços SL-6 (100 mL L^{-1}). E a solução de elementos traços SL-6 continha: $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,1 g L^{-1}), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,03 g L^{-1}), H_3BO_3 (0,3 g L^{-1}), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,2 g L^{-1}), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,01 g L^{-1}), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,02 g L^{-1}) e $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,03 g L^{-1}). O pH final desta solução foi ajustado a 3,4 com H_2SO_4 (0,05 mol L^{-1}). Para os ensaios cinéticos, a solução de tiosulfato foi substituída por sulfeto de sódio ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) dissolvido em solução tampão de fosfato pH 7,0 (1,43 g $\text{KH}_2\text{PO}_4 \text{ L}^{-1}$ e 7,47 g $\text{K}_2\text{HPO}_4 \text{ L}^{-1}$), para garantir que o valor de pH durante o ensaio se mantivesse constante (FAJARDO *et al.* 2014). Além disso, a concentração de nitrato na solução foi variada nos ensaios.

2.1.3 ENSAIO CINÉTICO EM BATELADA

Os ensaios foram realizados em frascos Erlenmeyer com volume de 250 mL sob agitação na presença de diferentes relações N/S (Tabela 5) com duração de 5h a 8h. Em diferentes frascos foram inseridos dez cubos com aresta de 1cm de espuma de poliuretano com biomassa imobilizada e 100 mL do referido meio sintético. Para que os microrganismos fossem mantidos em meio anóxico foi injetado nitrogênio gasoso (N₂) na solução durante alguns minutos e posteriormente os frascos foram hermeticamente fechados com tampa de butila. O cultivo foi incubado a 30°C e 150 rpm. Foram realizadas medidas periódicas da concentração de sulfetos totais dissolvidos. Ao final de cada ensaio mediu-se nitrato, nitrito e sulfato e as amostras de espuma foram armazenadas para posteriormente serem analisadas por reação de polimerização de cadeias (PCR) e eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE) afim se visualizar mudanças na comunidade microbiana do biofilme. Os ensaios foram realizados em duplicata.

Tabela 5: Concentração inicial de nitrato e sulfeto nas diferentes condições experimentais.

	Concentração inicial	Razão N/S
Sulfetos totais (mg L ⁻¹)	25,0	
N-NO ³⁻ (mg L ⁻¹)	55,0	1,6
N-NO ³⁻ (mg L ⁻¹)	34,0	1,0
N-NO ³⁻ (mg L ⁻¹)	14,0	0,4

2.1.4 ANÁLISE CINÉTICA

Modelos cinéticos foram ajustados aos dados dos perfis de consumo de sulfeto para obtenção dos parâmetros cinéticos. Foram testados os modelos de ordem zero, primeira e segunda ordem, conforme as equações 7, 8 e 9, para verificação do melhor ajuste aos dados experimentais obtidos.

2.1.5 METODOLOGIA ANALÍTICA

2.1.6.1 ANÁLISES FÍSICO QUÍMICAS

Todas as análises foram realizadas de acordo com o Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA/AWWA/WEF, 2005).

A concentração de nitrato foi determinada por espectrofotometria no ultravioleta considerando que o nitrato absorve em 220 nm. No entanto, a matéria orgânica dissolvida pode absorver neste comprimento de onda, sendo, assim, o valor corrigido fazendo-se uma leitura em 275 nm. Para a

realização da curva padrão, foram preparadas soluções padrões de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0 mg L⁻¹ de N – NO₃⁻ através da diluição, com água mili-Q, de uma solução padrão de 10,0 mg L⁻¹ de N – NO₃⁻ (KNO₃). Foram tomados 10,0 mL de cada padrão e do branco (água mili-Q), foram adicionados 0,2 mL de solução de HCl 1 M e agitou-se bem. Em um espectrofotômetro UV – Visível e utilizando uma cubeta de quartzo, a absorbância foi medida a 220 nm para obter a leitura de nitrato e a 275 nm para determinar a interferência devido à matéria orgânica dissolvida. Para a leitura da amostra, a mesma foi filtrada com um filtro de 0,45 µm e então diluída segundo a necessidade. As etapas seguintes foram realizadas de forma análoga aos padrões.

A concentração de nitrito foi determinada por espectrofotometria, uma vez que nitrito em pH entre 2,0 e 2,5 e na presença de sulfanilamida (C₆H₈N₂O₂S), diazotizada com dicloridrato de N – (1-naftil) – etilendiamina (C₁₂H₁₆Cl₂N₂), forma um complexo de cor rosa. O reagente colorante foi preparado dissolvendo-se 10,0 g de sulfanilamida em 800,0 mL de água mili-Q e 100,0 mL de ácido fosfórico 85%. Depois que a sulfanilamida foi dissolvida completamente, 1,0 g de dicloridrato de N – (1-naftil) etilendiamina foi adicionado. A solução foi então diluída a 1,0 L com água mili-Q. Esta solução é estável durante um mês quando conservada na geladeira em um frasco escuro. Para a realização da curva padrão, foram preparadas soluções padrões de 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,35; 0,40 e 0,45 mg L⁻¹ de NO₂⁻ através da diluição, com água mili-Q, de uma solução padrão de 0,50 mg L⁻¹. A solução padrão estoque foi fornecida pela Sigma Aldrich. Foram tomados 10,0 mL de cada padrão e do branco (água mili-Q) e adicionou-se 0,40 mL do reagente colorante. Depois de 10 minutos de reação foi realizada a leitura de absorbância em 543 nm, em um espectrofotômetro. Para a leitura das amostras, estas foram filtradas com um filtro de 0,45 µm e então foram diluídas, segunda a necessidade. As seguintes etapas foram realizadas de forma análoga aos padrões.

A análise dos sulfetos totais dissolvidos (H₂S, HS⁻ e S²⁻) no meio líquido foi realizada utilizando o kit da Hach que acompanha o reagente Sulfide 1 (#181632) e o reagente Sulfide 2 (#181732). Na amostra coletada dos reatores foi adicionada NaOH para evitar a perda de sulfeto para a fase gasosa.

2.1.6.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

A diversidade microbiana presente na biomassa dos reatores foi determinada a partir da extração do DNA presente nas amostras, seguida pelas técnicas de PCR (Polymerase Chain Reaction) e DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis). A biomassa utilizada em cada

ensaio foi extraída dos cubos de poliutero para posterior extração de DNA segundo o protocolo de Melvin e Hobson (1994).

As reações de PCR foram executadas utilizando o primer universal 968FGC, que delimita a região conservada entre os microrganismos do domínio *Bacteria*, em 35 ciclos com temperatura de desnaturação de 94 °C, 56 °C para anelamento e 72°C para extração. Para análise de DGGE foi utilizado o iniciador 1392R para DGGE (NIELSEN *et al.*, 1999).

2. 2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

2.2.1 PARÂMETROS CINÉTICOS E DE TRANSFERÊNCIA DE MASSA

Na Tabela 6 são apresentadas as concentrações de sulfeto e nitrato inicial e final, e nitrito final para cada relação N/S aplicada nos ensaios em batelada. Os perfis de concentração de sulfeto em função do tempo, para cada relação N/S estudada, estão apresentadas na Figura 5. O ensaio cuja relação N/S utilizada foi de 0,4, apresentou a maior porcentagem de remoção de nitrogênio do meio (70,7%), seguida pela relação N/S 1,6, com remoção de 16,0 % e N/S 1,0 com apenas 7,1% de remoção de nitrogênio. Independente da relação utilizada a porcentagem de remoção de sulfeto foi superior a 97%. No entanto, o sulfeto atingiu valores menores a 1 mg L⁻¹ após 5 horas de ensaio quando aplicada a relação N/S 0,4, enquanto que nas outras duas condições, o sulfeto atingiu valores menores a 1 mg L⁻¹ em 8 horas. Em relação ao pH, observou-se que o mesmo não apresentou grandes variações, mantendo-se próximo a 7,0, devido ao uso do tampão fosfato. É bem conhecido que o sulfeto de sódio aumenta o pH da solução, visto que o composto libera íons OH⁻ quando dissolvido em meio líquido, conforme equação 26, no entanto, o tampão foi eficiente em sua função. Desta forma, pode-se desconsiderar o efeito do pH na inibição das bactérias oxidantes de enxofre.

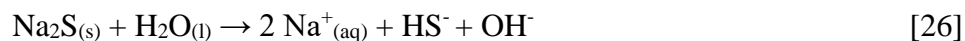


Tabela 6: Parâmetros analisados ao final dos ensaios cinéticos de desnitrificação autotrófica em batelada.

	Sulfeto inicial	Sulfeto final	N-NO ₃ ⁻ inicial	N-NO ₃ ⁻ final	Consumo N-NO ₃ ⁻	N-NO ₂ ⁻ final	pH
	mg S ²⁻ L ⁻¹	mg S ²⁻ L ⁻¹	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	(%)	mg L ⁻¹	
N/S 0,4	22,59	0,53	4,37	1,28	70,7	0,66	7,1
N/S 1,0	22,75	0,68	10,90	10,13	7,1	0,35	7,3
N/S 1,6	23,41	0,83	17,50	14,70	16,0	1,10	7,3

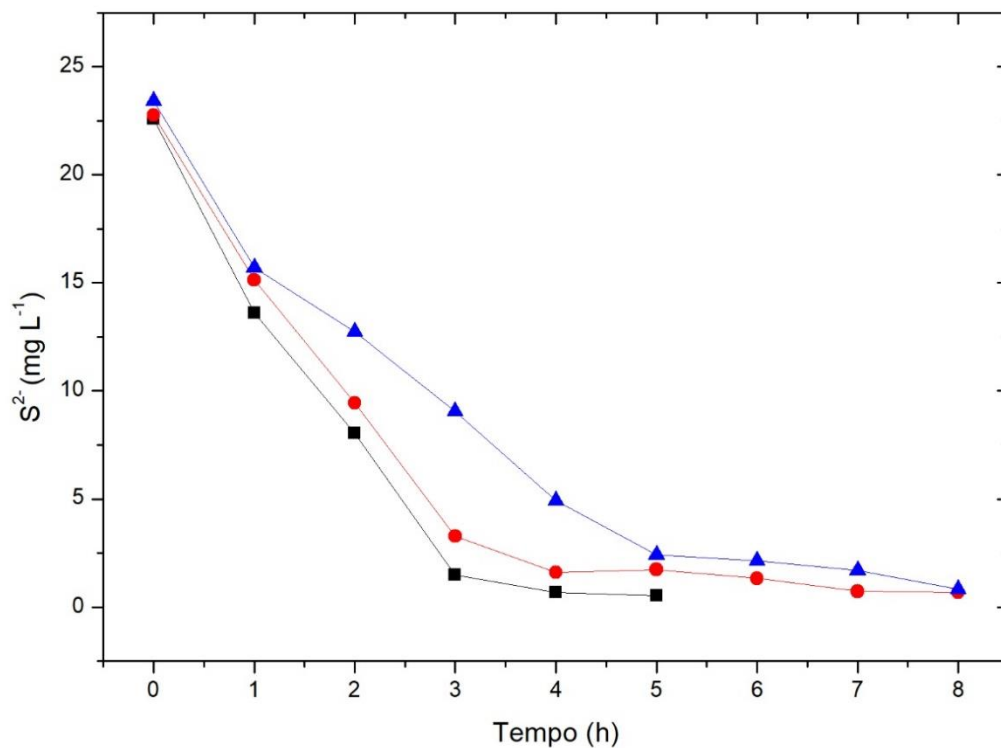


Figura 5: Concentração de sulfetos totais dissolvidos em função do tempo nos ensaios em batelada realizados com relação N/S inicial de (■) 0,4 (●) 1,0 e (▲) 1,6.

Modelos cinéticos de ordem zero, primeira e segunda ordem foram testados para determinação do melhor ajuste dos dados experimentais. Na Tabela 7 são apresentados os coeficientes de correlação (R^2) para as relações N/S empregadas, na qual pode-se analisar que os modelos com melhor ajuste aos dados experimentais foram os de primeira ordem, apresentando valores de R^2 superiores aos demais.

Tabela 7: Parâmetros cinéticos e coeficientes de correlação (R^2) obtidos com diferentes tipos de ajuste

	Ordem zero		Primeira Ordem		Segunda Ordem	
	k_0 (mg S L ⁻¹ h ⁻¹)	R^2	k_1 (h ⁻¹)	R^2	k_2 (mg S L ⁻¹ h ⁻¹)	R^2
N/S 0,4	-4,825	0,8880	-0,845	0,9455	0,410	0,8527
N/S 1,0	-2,509	0,7130	-0,488	0,8305	0,204	0,6759
N/S 1,6	-2,784	0,8670	-0,419	0,9499	0,128	0,7307

Na Figura 6 são apresentadas as curvas ajustadas aos pontos experimentais, correspondente ao modelo de primeira ordem. Para cada curva foram estimadas as velocidades específicas de utilização do substrato observada (r_{obs}), calculada conforme a equação 5, as quais estão apresentados na Tabela 8.

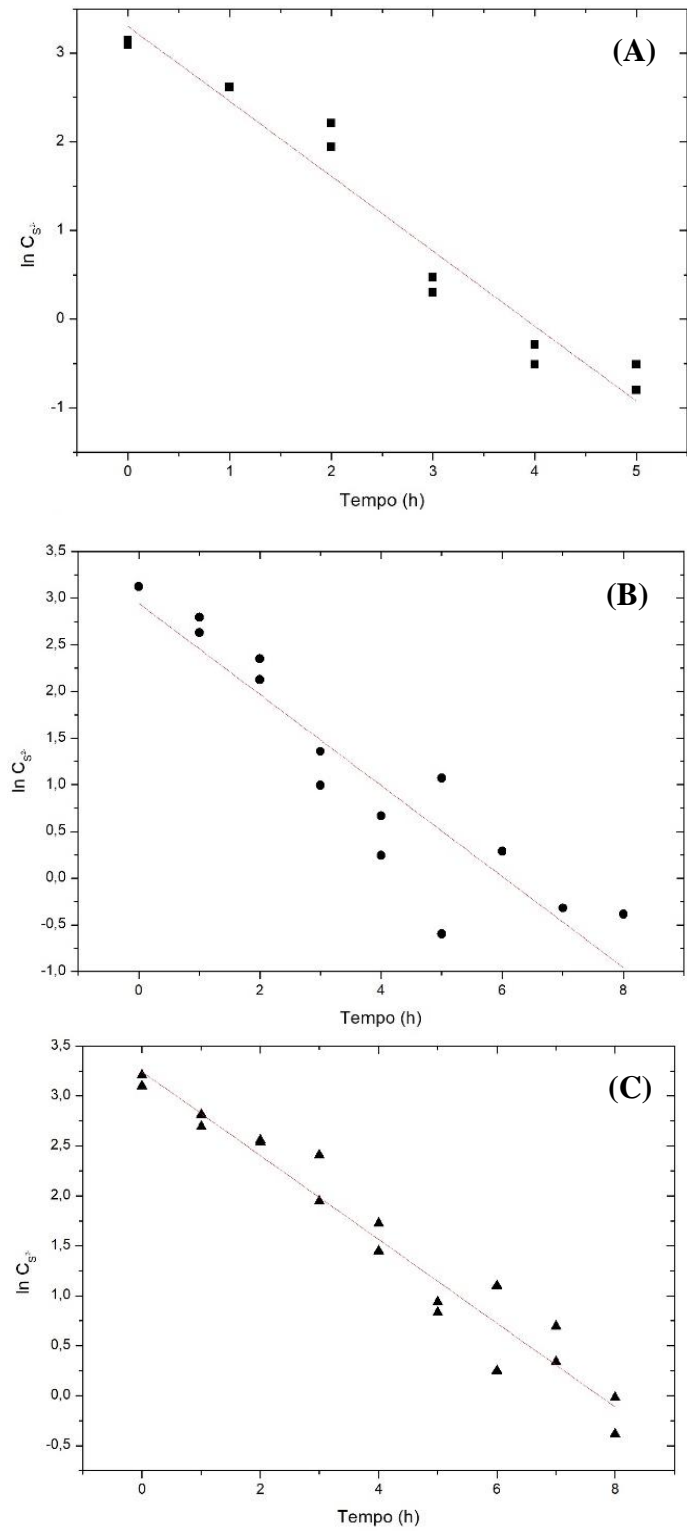


Figura 6: Curvas ajustadas aos pontos experimentais para equação cinética de primeira ordem, referentes aos ensaios realizados com relação N/S de a) 0,4 (■) b) 1,0 (●) e c) 1,6 (▲).

Tabela 8: Parâmetros cinéticos intrínsecos e seus respectivos coeficientes de correlação (R^2) e velocidade específica de utilização do substrato observada (r_{obs}) obtido para cada relação N/S empregada.

	C_s (mg S L ⁻¹)	R^2	$r_{obs t=0}$ (mg S L ⁻¹ h ⁻¹)
N/S 0,4	$-0,8445 x + 3,3011$	0,9455	19,0915
N/S 1,0	$-0,4870 x + 2,9437$	0,8305	11,0929
N/S 1,6	$-0,4194 x + 3,242$	0,9499	9,8166

Na Figura 7 tem-se os perfis de velocidade específica inicial ($t=0$) de utilização de sulfeto observada ($r_{obs|t=0}$) em função das relações N/S. Beristain-Cardoso et al. (2006) observou que relações N/S próximas à 1,6 apresentam velocidades superiores quando comparadas a relações N/S 1,0 e 0,8, diferente do observado no presente trabalho. Souza (2011) também relatou velocidades específicas maiores para a relação N/S 1,4 ($6,14 \pm 1,33$ mg N-NO₃⁻ h⁻¹ gSSV⁻¹) quando comparada à relação N/S 0,8 ($2,06 \pm 0,10$ mg N-NO₃⁻ h⁻¹ gSSV⁻¹), entretanto atribui esse fenômeno à possível adaptação da biomassa à desnitrificação autotrófica, visto que a mesma biomassa foi utilizada em ambos ensaios, com uma diferença de 20 dias entre os dois perfis analisados.

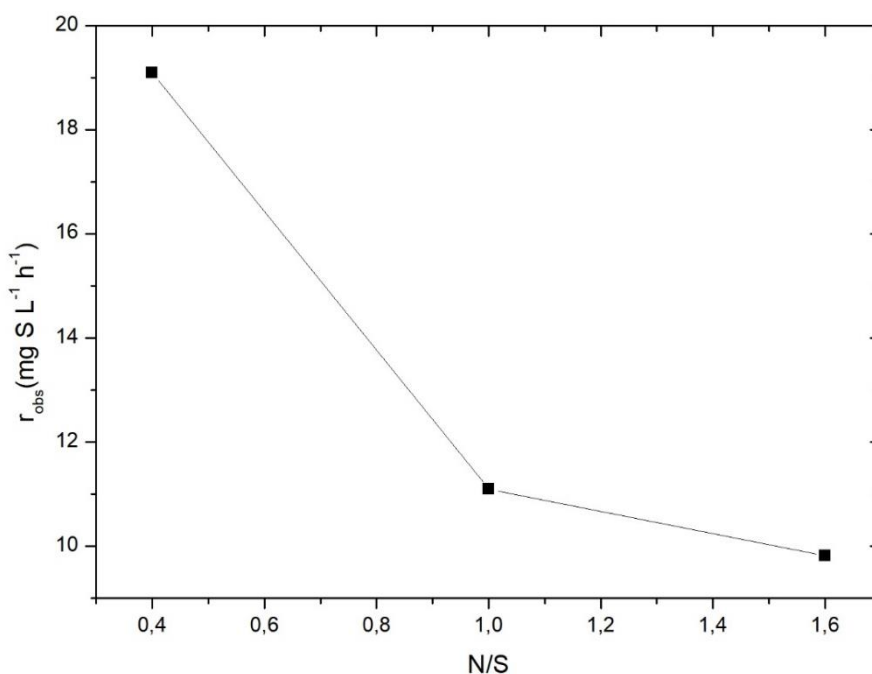
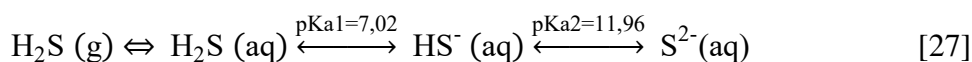


Figura 7: Perfil de velocidade específica inicial observada de consumo de sulfeto em função da relação N/S.

O balanço de massa realizado considerando o consumo de nitrato do meio aponta que pela desnitrificação autotrófica completa gerando sulfato (equação 22), o consumo de sulfeto teria sido de apenas 3,49 mg S L⁻¹, 0,61 mg S L⁻¹ e 2,38 mg S L⁻¹, enquanto que pela desnitrificação autotrófica completa com geração de enxofre elementar (equação 23), o consumo de sulfeto teria sido de 13,94 mg S L⁻¹, 2,46 mg S L⁻¹ e 9,51 mg S L⁻¹ para as relações N/S 0,4; 1,0 e 1,6 respectivamente. Considerando a desnitrificação autotrófica incompleta, utilizando o nitrato como receptor de elétrons, o consumo de sulfeto com geração de sulfato (equação 24) teria sido de 0,37 mg S L⁻¹, 0,2 mg S L⁻¹ e 0,64 mg S L⁻¹ enquanto que pela desnitrificação incompleta gerando enxofre elementar (equação 25), o consumo de sulfeto teria sido de 1,50 mg S L⁻¹, 0,80 mg S L⁻¹ e 2,59 mg S L⁻¹ para as relações N/S 0,4; 1,0 e 1,6 respectivamente. Portanto, os valores de sulfeto consumido considerando as diferentes vias de desnitrificação autotróficas são muito abaixo do sulfeto total consumido no ensaio. Desta forma, não foi possível determinar a via metabólica do consumo de sulfeto. Os valores de sulfato final (2035,12 mg S²⁻ L⁻¹, 1983,82 mg S²⁻ L⁻¹ e 1835,74 mg S²⁻ L⁻¹ para as relações N/S=0,4; N/S=1,0 e N/S=1,6, respectivamente) foram muito superiores aos estimados pelo balanço de massa, o que pode indicar a presença de sulfato na biomassa utilizada.

Apesar dos ensaios terem sido realizados utilizando concentrações estequiométricas nas três diferentes relações N/S estudadas, o consumo de nitrato foi muito abaixo do esperado (Tabela 6), sugerindo que o nitrato não foi o único receptor final de elétrons utilizado para a oxidação do sulfeto. Apesar da retirada do oxigênio dos ensaios por meio da injeção de N₂, o uso do O₂ residual no meio, como receptor final de elétrons, pode ter sido uma das vias para oxidação do sulfeto. Outra hipótese seria a perda do sulfeto da fase líquida para a gasosa, apesar de que segundo a equação 27, em valores de pH superiores a 7,02, a espécie majoritária seria o HS⁻.



A Tabela 9 apresenta a porcentagem e sulfeto que deveria ter sido oxidado por vias diferentes que a desnitrificação.

Tabela 9: Porcentagem de enxofre oxidado por vias diferentes da desnitrificação autotrófica por meio de balanço de massa

	Sulfeto não oxidado por desnitrificação completa via enxofre elementar (%)	Sulfeto não oxidado por desnitrificação completa via sulfato (%)	Sulfeto não oxidado por desnitrificação incompleta via enxofre elementar (%)	Sulfeto não oxidado por desnitrificação incompleta via sulfato (%)
N/S 0,4	36,8	84,2	93,2	98,3
N/S 1,0	88,9	97,2	96,3	99,0
N/S 1,6	57,9	87,2	86,2	94,8

Segundo Droste e Kennedy (1986) a difusividade efetiva do substrato na biopartícula (D_e) de um substrato em biofilme anaeróbico pode ser determinada como sendo 80% do valor da difusão do substrato em água. Foi considerada a efetividade do H_2S em solução aquosa (D_{LS}) de $1,804 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ a 20°C calculada por Silva Filho (2009), pois não foi identificado na literatura valores equivalentes à difusividade efetiva do sulfeto em solução aquosa. Tem-se, portanto, por meio das equações 28 e 29 que D_{LS} equivale a $2,1648 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ a 30°C e, portanto, D_e equivale a $1,7318 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ a 30°C .

$$(D_{LS})_T = (D_{LS})_{20} [1 + b(T - 20^\circ \text{C})] \quad [28]$$

$$b = \frac{0,2 \sqrt{\mu_{B(20^\circ \text{C})}}}{\sqrt{\rho_{B(20^\circ \text{C})}}} \quad [29]$$

Em que:

T: temperatura ($^\circ \text{C}$)

μ_B : viscosidade dinâmica do solvente a 20°C (cP)

ρ_B : densidade do solvente a 20°C (kg m^3)

b: coeficiente para diferentes temperaturas

A porosidade do leito (ϵ) utilizada foi baseada em Zaiat *et al.* (1997), equivalente a 0,4 e a viscosidade do líquido correspondente a $1,0037 \cdot 10^{-2} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Obteve-se portanto o número de Sherwood correspondente a 25,66. O valor de k_s , obtido substituindo os valores de d_p , D_{LS} e Sh na equação 10, resultou em $5,55 \cdot 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$.

A magnitude dos efeitos da resistência a transferência de massa foi avaliada calculando os parâmetros adimensionais Bi , ϕ_{obs} e η para os ajustes cinéticos de cada relação N/S, apresentados na Tabela 10

Tabela 10: Parâmetros adimensionais para avaliação da magnitude dos efeitos de transferência de massa para as três relações N/S avaliadas empregando sulfeto como doador de elétrons

Relação N/S	Parâmetros adimensionais		
	Bi	ϕ_{obs}	η
0,4	16,03	0,6136	0,7829
1,0	16,03	0,4661	0,8589
1,6	16,03	0,4323	0,8756

Sendo Bi inferior a 100, comprova-se os efeitos significativos da resistência à transferência de massa externa. Portanto a velocidade de transferência no filme externo foi limitante ao processo. Esse efeito pode ser minimizado com o aumento da agitação dos reatores superiores a 150 rpm conforme Vieira (1996), porém poderia haver o desprendimento da biomassa aderida nas espumas de poliuretano. Os valores de ϕ_{obs} , superiores a 0,3 para as relações analisadas comprovam que os efeitos da resistência de massa interna foram significativos, portanto a velocidade de reação observada foi limitada pela difusão intraparticular. Os valores de η também indicam que as resistências externa e intraparticular de massa foram significativas.

2.2.2 ANÁLISE DA DIVERSIDADE METABÓLICA DA COMUNIDADE BACTERIANA

Para análise da dinâmica da população do domínio *Bacteria* foi utilizado a técnica PCR-DGGE. A transição desses microrganismos de acordo com a Figura 8 pode estar relacionada à variação na concentração de nitrato utilizada em cada relação estabelecida, visto que as condições de temperatura e pH foram iguais para todas as relações.

O perfil de DGGE indicou a presença de uma comunidade diversa, apresentando, entretanto, a predominância da banda N em todas as relações N/S utilizadas. Souza (2011) relatou a presença de grupos heterotróficos na biomassa utilizada em condições autotróficas, ao comparar as amostras do inóculo e após operação com sulfeto como doador de elétrons, com o favorecimento de três bandas.

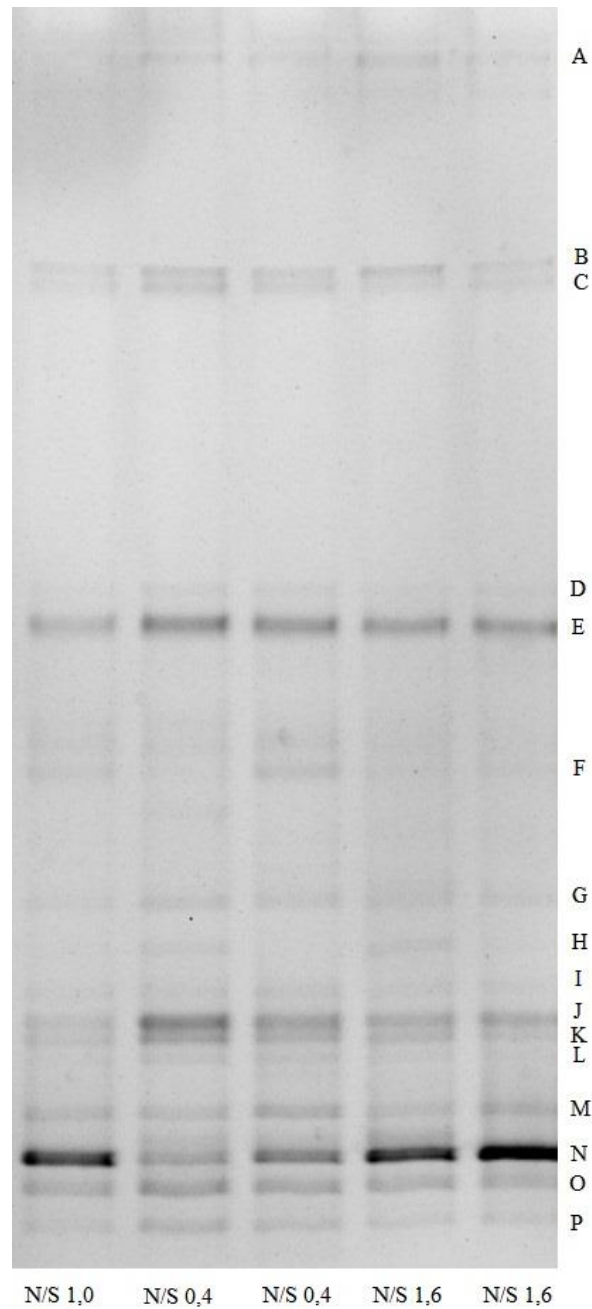


Figura 8: Gel de DGGE obtido das matrizes de poliuretano nos ensaios cinéticos de desnitrificação autotrófica com uso de sulfeto como doador de elétrons para as relações N/S 0,4; 1,0 e 1,6.

Quanto aos valores de diversidade metabólica (índice de Shannon), índice de dominância (Simpson) e equitabilidade de Pielou (E) foram notadas poucas diferenças entre as relações N/S 0,4 e 1,6, conforme tabela 11. O índice de Simpson demonstra baixa dominância de microrganismos nas amostras analisadas, visto que os valores para as três relações empregadas aproximaram-se de 1. Em relação à diversidade metabólica o índice de Shannon apresentou valores

entre 2,0 e 2,5, indicando uma diversidade bacteriana moderada, valores também encontrados por Oliveira Diniz (2015) em reatores UASB com oxidação microbiológica de sulfeto. A equitabilidade de Pielou representa alta uniformidade da distribuição dos indivíduos entre as espécies existentes, uma vez que os valores encontrados para este índice se aproximam de 1 para as relações N/S 0,4 e 1,6. A relação N/S 1,0, por sua vez demonstrou uma menor uniformidade quando comparada às outras relações utilizadas. De modo geral, os índices de diversidade encontrados para as relações N/S se mostraram bastante próximos, indicando que as diferentes concentrações de nitrato nos ensaios não afetaram significativamente a diversidade de espécies bacterianas, possivelmente porque os ensaios foram de curta duração.

Tabela 11: Diversidade metabólica (índice de Shannon) de dominância (índice de Simpson) e equitabilidade de Pielou da população microbiana utilizada nos ensaios cinéticos em diferentes relações N/S.

N/S	Simpson	Shannon	Equitabilidade
0,4	0,9003	2,4955	0,9120
1,0	0,7949	2,1250	0,7846
1,6	0,8801	2,4185	0,8723

A Figura 9 apresenta o dendrograma de similaridade para as relações N/S 0,4; 1,0 e 1,6, gerado a partir do cálculo da similaridade utilizando o programa BioNumerics versão 7.3. Com base na análise de agrupamento do perfil de bandas do DGGE é possível constatar que a similaridade entre as relações utilizadas apresentou uma alta porcentagem de similaridade, sendo que as relações N/S 0,4 e 1,6 apresentaram as maiores porcentagens (83,5%) enquanto que a relação N/S 1,0 apresentou 79% de similaridade com as outras relações.

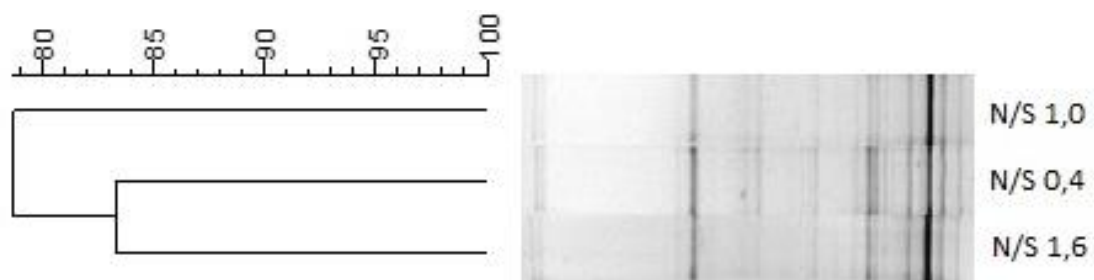


Figura 9: Dendrograma de similaridade utilizando o coeficiente de Jaccard com tolerância de 5% para as relações N/S empregadas nos reatores em batelada com uso de sulfeto como doador de elétrons.

CAPÍTULO 3 – RECUPERAÇÃO DE ENXOFRE

Este capítulo apresenta os materiais e métodos utilizados para avaliar a recuperação de enxofre elementar formado em reatores contínuos de remoção de nitrogênio via desnitrificação autotrófica com a utilização de sulfeto de hidrogênio (H₂S) como doador de elétrons; além da análise dos resultados obtidos por meio do planejamento fatorial completo.

3.1 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.1 COAGULANTES

Foram utilizados os seguintes coagulantes para avaliar a recuperação de enxofre elementar de efluentes provenientes de reatores biológicos: policloreto de alumínio (PAC, Tabela 12) e, tanino (Tanfloc SG fabricados pela TANAC S/A.). Sob o ponto de vista econômico e ambiental, é muito interessante o uso de coagulantes naturais que possuem baixo custo e eliminam riscos de contaminação do solo. O PAC, que é um coagulante amplamente utilizado devido à sua eficiência e baixo custo, foi avaliado para fins de comparação.

Tabela 12: Características do policloreto de alumínio utilizado nos ensaios *jar test*.

Ensaio realizado	Resultado	ME	Especificação
Aspecto	ok	ME - 052	Líquido amarelo a castanho
Densidade (g mL ⁻¹)	1,35	ME - 152	= FAIXA (1,3;1,5)
Teor de Al ₂ O ₃ (%)	16,36	ME - 120	= FAIXA (14;20)

Fonte: QUIMISA S/A

3.1.2 EFLUENTE

O efluente utilizado nos ensaios *jar test* foram coletados de um reator de desnitrificação autotrófica utilizando H₂S como doador de elétrons após ter passado por um reator de nitrificação. A composição da água residuária sintética alimentada no reator de nitrificação simulava efluentes de UASB que tratam esgoto doméstico.

3.1.3 ENSAIOS EM “JAR TEST”

Os ensaios de coagulação-floculação-sedimentação foram realizados em escala de bancada utilizando um equipamento Jar test, composto por 6 jarros de acrílico com volume de 2,0 L, controlador de rotação e pás em aço inox. Esses ensaios foram realizados utilizando o efluente mencionado anteriormente enriquecido com 0,1g de enxofre elementar coloidal (fornecido pela Sigma Aldrich). Durante o ensaio foi acompanhada a porcentagem de remoção de turbidez. As

leituras de turbidez foram feitas a cada 10 minutos até completar 60 minutos de ensaio e posteriormente a cada 20 minutos. Os testes foram interrompidos quando se atingia 200 minutos de experimento, tempo suficiente para que houvesse estagnação da sedimentação de sólidos nos jarros. O sólido sedimentado foi separado, lavado com água destilada e centrifugado por 10 min à 9.000 rpm para posterior secagem em estufa à 30°C e análise do conteúdo de enxofre elementar.

3.1.4 MÉTODOS ANALÍTICOS

A análise da concentração de enxofre elementar foi realizada de acordo com Godoi et al. (2019). A solução padrão de enxofre elementar (200 mg L⁻¹) foi preparada dissolvendo exatamente 50 mg de enxofre elementar (99,5 – 100,5 %) em 250 mL de acetona P.A. Onze soluções de 5 a 100 mg S⁰ L⁻¹ foram feitas, em triplicata, diluindo a solução padrão mãe em acetona.

Para a realização da curva padrão, foram tomados 4 mL de água destilada e adicionados em cubetas de tubo. Posteriormente, foi adicionado 1 mL de cada solução padrão (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mg L⁻¹ S⁰), sendo que cada concentração foi feita em triplicata. Os tubos foram agitados e após 1 hora a leitura da absorbância foi medida a 420 nm em espectrofotômetro Nanocolor® - Macherey-Nagel, usando cubeta de tubo (16 mm – D.E.).

Para a determinação do enxofre elementar nas amostras foi realizada a extração do enxofre elementar da amostra sólida com acetona, adicionando 5mL de acetona ao sólido seco em estufa a 60 °C e previamente pesado. Os tubos passaram por forte agitação para diluição do enxofre elementar. Foi adicionado 1mL da amostra diluída dez vezes a 4mL de água destilada e, após uma hora, foi realizada a leitura da absorbância a 420nm em espectrofotômetro Nanocolor® - Macherey-Nagel, usando cubeta de tubo (16 mm – D.E.).

A medição da turbidez também foi realizada utilizando o espectrofotômetro Nanocolor,

3.1.5 PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO

Foram definidas as variáveis dependentes para o planejamento fatorial aplicado neste trabalho. Foram elas: concentração de coagulante (c), velocidade lenta de agitação (v) e pH (p) do efluente, objetivando analisar estatisticamente o efeito das variáveis no processo com o menor número de experimentos para determinar a variável resposta – concentração de S⁰ no sólido sedimentado durante o Jar Test.

O planejamento empregado foi o fatorial completo com três fatores em dois níveis (2³) com replicatas e dois pontos centrais, totalizando 18 ensaios para cada coagulante utilizado. As Tabela

13 Tabela 14, apresentam os níveis dos fatores e seus valores codificados, para o PAC e Tanino respectivamente, realizadas no pacote computacional *STATISTICA for Windows* versão 10.0.

Tabela 13: Níveis para os fatores e seus valores codificados para o ensaio Jar Test utilizando o PAC

PAC				
Nível \ Fator	c(mg L ⁻¹)	v (rpm)	pH	
-1	3	80	3	
1	25	160	9	

Tabela 14: Níveis para os fatores e seus valores codificados para o ensaio Jar Test utilizando o Tanino

Tanino				
Nível \ Fator	c(mg L ⁻¹)	v (rpm)	pH	
-1	10	80	5	
1	60	160	9	

3.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise dos resultados obtidos para concentração de coagulante, velocidade lenta e pH, obtendo como resposta a porcentagem de enxofre elementar no sólido, foi feito por meio do planejamento fatorial completo 2³ com ponto central, cuja as matrizes do planejamento para o PAC e Tanino são apresentadas nas Tabela 15 e 16.

O principal efeito e interação da resposta dependente (porcentagem de enxofre coloidal no sólido sedimentado) foi obtido com um limite de confiança de 95% para um modelo linear, considerando o erro puro.

Tabela 15: Planejamento Fatorial Completo com matriz das variáveis independentes codificadas e reais e variáveis resposta para os ensaios utilizando PAC.

PAC						
Ensaio	pH Real	Dosagem Real (mg L ⁻¹)	Dosagem real (mg PAC mgS ⁻¹)	Velocidade Lenta Real (rpm)	Remoção de Turbidez (%)	S ⁰ (%) no sólido do Jar Test
1 (1)	3,0	3,00	0,075	80	92,77	45,90
2 (1)	9,0	3,00	0,075	80	96,32	14,53
3 (1)	3,0	25,00	0,625	80	98,35	8,00
4 (1)	9,0	25,00	0,625	80	80,25	5,99
5 (1)	3,0	3,00	0,075	160	90,04	33,14
6 (1)	9,0	3,00	0,075	160	93,71	26,40
7 (1)	3,0	25,00	0,625	160	93,87	25,28
8 (1)	9,0	25,00	0,625	160	87,46	4,21
9 (2)	3,0	3,00	0,075	80	95,56	28,41
10 (2)	9,0	3,00	0,075	80	96,69	19,77
11 (2)	3,0	25,00	0,625	80	98,26	5,29
12 (2)	9,0	25,00	0,625	80	85,52	5,27
13 (2)	3,0	3,00	0,075	160	91,32	24,42
14 (2)	9,0	3,00	0,075	160	94,51	29,35
15 (2)	3,0	25,00	0,625	160	97,41	13,72
16 (2)	9,0	25,00	0,625	160	86,71	7,09
17 (C)	6,0	14,00	0,350	120	88,62	6,70
18 (C)	6,0	14,00	0,350	120	88,93	5,71

Tabela 16: Planejamento Fatorial Completo com matriz das variáveis independentes codificadas e reais e variáveis resposta para os ensaios utilizando Tanino.

Tanino						
Ensaio	pH Real	Dosagem Real (mg L ⁻¹)	Dosagem real (mg Tanino mgS ⁻¹)	Velocidade Lenta Real (rpm)	Remoção de Turbidez (%)	S ⁰ (%) no sólido do Jar Test
1 (1)	5,0	10,00	0,25	80	96,93	40,49
2 (1)	9,0	10,00	0,25	80	50,83	0,00
3 (1)	5,0	60,00	1,50	80	20,00	0,00
4 (1)	9,0	60,00	1,50	80	94,53	21,39
5 (1)	5,0	10,00	0,25	160	90,97	42,87
6 (1)	9,0	10,00	0,25	160	30,38	0,00
7 (1)	5,0	60,00	1,50	160	20,00	0,00
8 (1)	9,0	60,00	1,50	160	97,36	24,81
9 (2)	5,0	10,00	0,25	80	98,06	36,10
10 (2)	9,0	10,00	0,25	80	20,41	0,00
11 (2)	5,0	60,00	1,50	80	21,77	0,00
12 (2)	9,0	60,00	1,50	80	95,02	20,10
13 (2)	5,0	10,00	0,25	160	93,11	46,54
14 (2)	9,0	10,00	0,25	160	38,21	0,00
15 (2)	5,0	60,00	1,50	160	15,45	0,00
16 (2)	9,0	60,00	1,50	160	97,31	18,79
17 (C)	7,0	35,00	0,88	120	89,96	58,34
18 (C)	7,0	35,00	0,88	120	90,30	59,42

A Figura 10 mostra o comportamento cinético dos ensaios realizados com o PAC e tanino. Nota-se que nos ensaios em que o PAC (Figura 10A) foi utilizado como coagulante, a remoção de turbidez foi bastante satisfatória (atingindo valores superiores a 80%), sendo que em todos os ensaios, independente das variáveis operacionais, a turbidez residual atingiu valores inferiores a 100 NTU após uma hora de experimento, atendendo a resolução CONAMA 357 para lançamento de efluente em córregos de classe 2. Atender o padrão de lançamento de efluentes se mostra particularmente interessante considerando a aplicação da desnitrificação autotrófica com uso de sulfeto de hidrogênio como doador de elétrons para a redução de nitrato e nitrito a nitrogênio, recuperando enxofre elementar no pós tratamento de efluentes. Dessa forma o uso do PAC como forma de recuperar enxofre e de atender ao padrão de qualidade apresenta significativa aplicabilidade. Além disso, a média de remoção de turbidez ficou em torno de 92%, sendo que os ensaios 3 e 11 (pH: 3,0; concentração de PAC: 3 mg L⁻¹; velocidade lenta de agitação: 80 rpm), e

7 e 15 (pH: 3,0; concentração de PAC: 25 mg L⁻¹; velocidade lenta de agitação: 160 rpm), apresentaram os melhores resultados com 98,3% e 97,4% de remoção de turbidez, respectivamente.

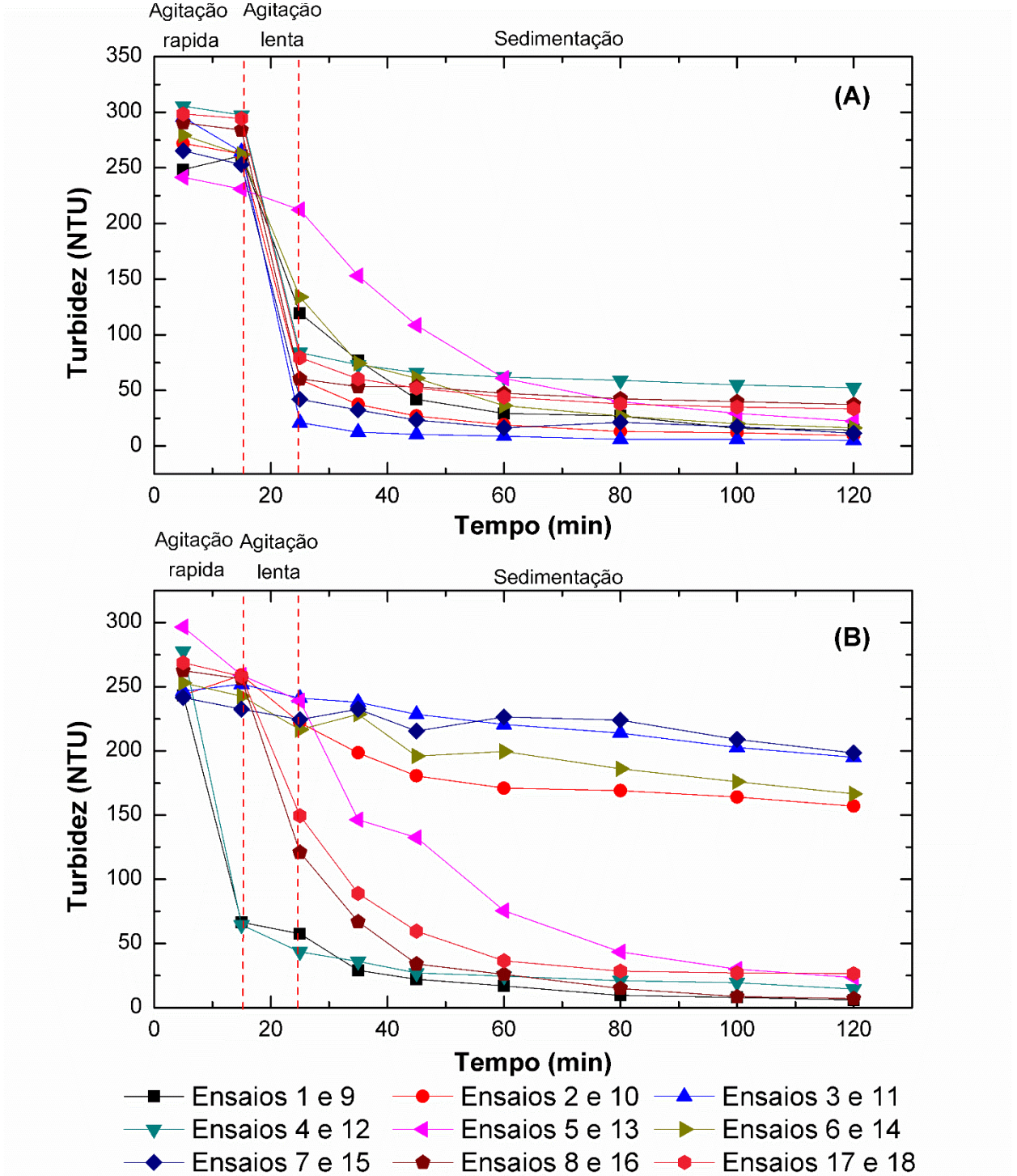


Figura 10: Cinética da remoção da turbidez nos ensaios realizados com A) PAC e B) Tanino.

Para o tanino (Figura 10B), pode-se observar que apenas 5 condições experimentais permitiram a obtenção de baixa turbidez ao final de duas horas de experimento. As duplicatas 1 e 9 (pH: 5,0; concentração de tanino: 10 mg L⁻¹; velocidade lenta de agitação: 80 rpm), 4 e 12 (pH: 9,0; concentração de tanino: 60 mg L⁻¹; velocidade lenta de agitação: 80 rpm), 5 e 13 (pH: 5,0; concentração de tanino: 10 mg L⁻¹; velocidade lenta de agitação: 160 rpm), 8 e 16 (pH: 9,0; concentração de tanino: 60 mg L⁻¹; velocidade lenta de agitação: 160 rpm), 17 e 18 (pH: 7,0; concentração de tanino: 35 mg L⁻¹; velocidade lenta de agitação: 120 rpm) apresentaram valores de turbidez residual abaixo de 100 NTU após uma hora de experimento, atingindo porcentagens de remoção de turbidez acima de 90% ao final dos ensaios. Pode se observar que o tanino age em faixas de dosagem e pH mais restritas que o PAC, porém com eficiência equivalente.

As Tabela 17 e Tabela 18 e a Figura 11 apresentam os valores dos efeitos estimados e as interações entre os fatores (pH, concentração de coagulante e velocidade lenta) analisados no planejamento fatorial completo, utilizando o PAC e o Tanino como coagulantes e obtendo como resposta a porcentagem de enxofre elementar recuperada do sólido sedimentado ao final do ensaio. Conforme mostra o diagrama de Pareto (Figura 11A), para o PAC, os efeitos da concentração de coagulante e do pH foram significativos sobre a variável resposta, sendo que o efeito estimado da concentração de coagulante atingiu o valor aproximado de -7,22 e do pH de aproximadamente -3,51. Para o tanino (Figura 11B), a interação entre a concentração de coagulante e o pH é o efeito estimado que apresenta a maior significância sobre a variável resposta, com o valor aproximado de 32,59, seguido pelos efeitos do pH e da concentração do coagulante de forma independente, com um valor aproximado de -10,50 cada.

Os efeitos estimados sugerem que o uso de baixas concentrações de PAC e pH favorecem a obtenção de enxofre elementar no sólido sedimentado. Para o tanino (Figura 11B), o diagrama demonstra que os fatores pH e concentração de coagulante afetam a variável resposta com a mesma magnitude (-10,50) e, quando combinados, alteram positivamente a variável resposta.

Tabela 17: Efeitos Estimados do planejamento fatorial completo para a porcentagem de enxofre elementar recuperada utilizando PAC.

Efeitos Estimados; R²=0,6342; Ajuste: 0,46536					
MS Erro Puro = 25,9216					
	Desvio Padrão	Erro	t (11)	p	Limite de Confiança ±
Efeito	Efeito	Puro			95%
Média/Interação	16,0853	1,138455	14,12905	2,14E-08	(13,579569; 18,591014)
pH (ρ)	-8,9436	2,545663	-3,51325	0,004856	(-7,273263; -1,670297)
Concentração de coagulante (mg.L ⁻¹) (c)	18,3829	2,545663	-7,22128	1,71E-05	(-11,992953; -6,389986)
Velocidade Lenta (rpm) (v)	3,8055	2,545663	1,49489	0,163066	(-0,898735; 4,704231)
ρ e c	1,5094	2,545663	0,59292	0,565226	(-2,046797; 3,556169)
ρ e v	1,5650	2,545663	0,61475	0,551222	(-2,019005; 3,583961)
c e v	2,6316	2,545663	1,03374	0,323451	(-1,485708; 4,117258)

Tabela 18: Efeitos Estimados do planejamento fatorial completo para a porcentagem de enxofre elementar recuperada utilizando Tanino.

Efeitos Estimados; R²=0,45478; Ajuste: 0,20314					
MS Erro Puro = 3,70887					
	Desvio Padrão	Erro	t (11)	p	Limite de Confiança ±
Efeito	Efeito	Puro			95%
Média/Interação	24,1231	0,430632	56,0180	7,24E-15	(23,175315; 25,070944)
pH	10,1138	0,962922	10,5032	4,52E-07	(-6,116589; -3,997211)
Concentração de coagulante (mg.L ⁻¹) (c)	10,1138	0,962922	10,5032	4,52E-07	(-6,116589; -3,997211)
Velocidade Lenta (rpm) (v)	1,8659	0,962922	1,9378	0,078737	(-0,126717; 1,992661)
pH e c	31,3873	0,962922	32,5958	2,70E-12	(14,633946; 16,753324)
pH e v	-1,3394	0,962922	-1,3910	0,191724	(-1,729395; 0,389982)
c e v	-1,3394	0,962922	-1,3910	0,191724	(-1,729395; 0,389982)

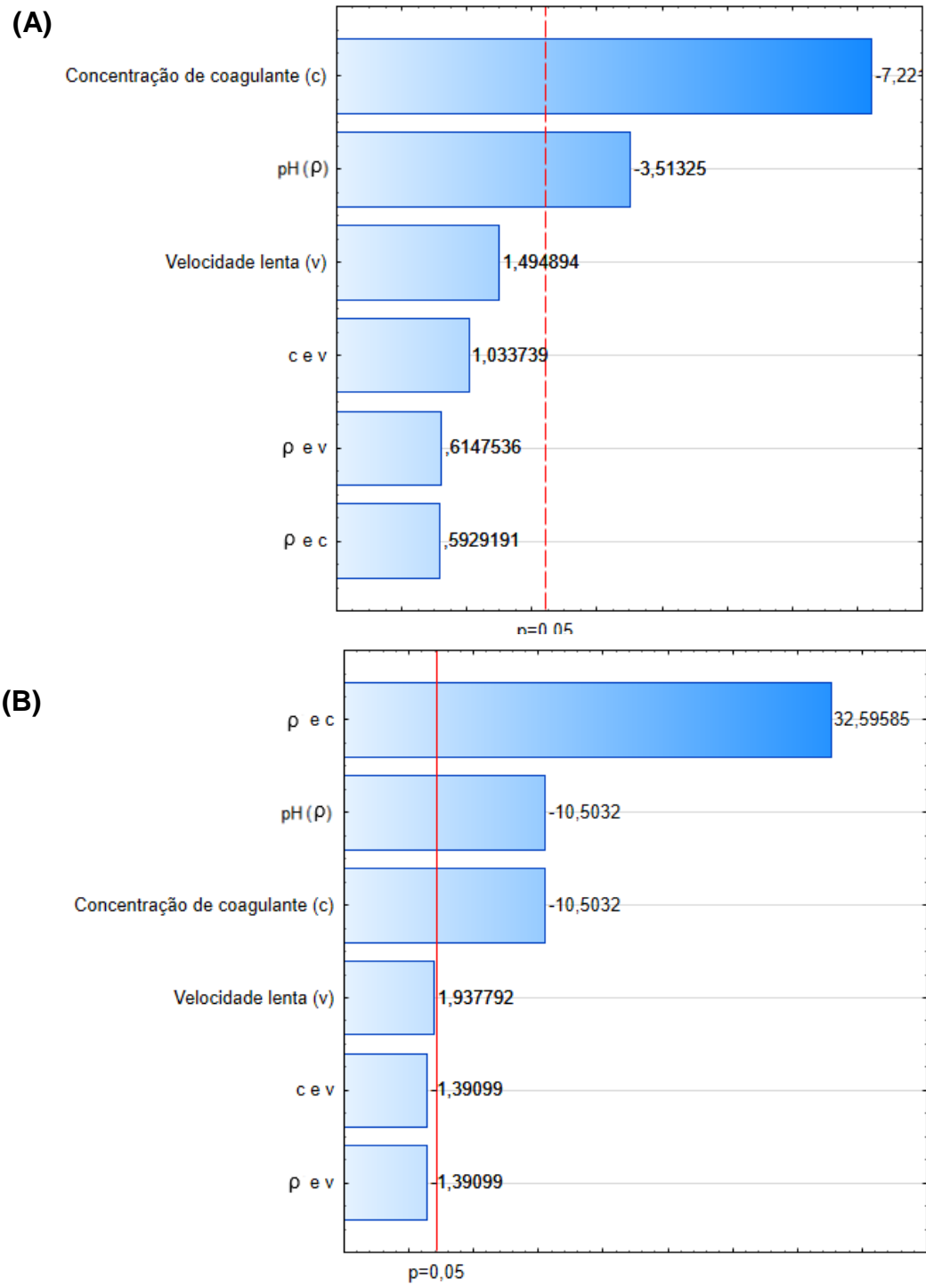


Figura 11: Diagrama de Pareto do planejamento fatorial completo para a porcentagem elementar recuperado utilizando A) PAC e B) Tanino

O modelo estatístico foi proposto para o PAC com base nos coeficientes gerados pelo STATISTICA apresentados na Tabela 17, conforme equação 30.

$$\hat{y} = 16,09 - 14,47 \rho - 9,19 c \quad [30]$$

O modelo proposto na equação 30 apresenta significância estatística, porém não é preditivo uma vez que o valor de $F_{6,13}=2,91$ é apenas 1,29 vezes menor que a razão entre a média quadrática da regressão e a média quadrática residual ($MQ_R/MQ_r = 3,76$) conforme Tabela 19. O modelo não se apresenta ajustado, pois o valor de $F_{2,11} = 3,98$ é menor que a razão entre a média quadrática da falta de ajuste e a média quadrática do erro puro ($MQ_{faj}/MQ_{ep} = 14,44$). Portanto o modelo estatístico proposto possui significância estatística, porém não é útil para a realização de previsões e não é ajustado. Outro fator que evidencia que a falta de ajuste do modelo construído é que o valor de R^2 (63,42%) apresenta-se consideravelmente abaixo da variância máxima explicável, que é de 89,82%.

Tabela 19: Resultados da análise de regressão para pH, concentração de coagulante e velocidade lenta para a porcentagem de enxofre elementar recuperado utilizando PAC como coagulante.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática
Regressão	1,7764E+07	6	2,9607E+06
Resíduos	1,0248E+07	13	7,8828E+05
Falta de Ajuste	7,3973E+06	2	3,6986E+06
Erro Puro	2,8503E+06	11	2,5912E+05
Total	2,8012E+07	19	
R^2	0,6342		
R^2 Explicável	0,8982		

O modelo estatístico para o tanino também foi proposto com base nos coeficientes gerados pelo STATISTICA apresentados na tabela 16, conforme equação 31.

$$\hat{y} = 24,12 - 5,06 \rho - 5,06 c + 15,69 \rho c \quad [31]$$

Ao analisar a Tabela 20, o modelo proposto não apresenta significância estatística e não é preditivo, visto que o valor $F_{6,13}= 2,91$ é 5,00 vezes maior que a razão entre a média quadrática da regressão e a média quadrática residual ($MQ_R/MQ_r = 0,58$). O modelo também não se apresenta

ajustado, pois o valor de $F_{2,11} = 3,98$ é muito menor que a razão entre a média quadrática da falta de ajuste e a média quadrática do erro puro ($MQ_{faj}/MQ_{ep} = 2539,68$), indicando uma grande falta de ajuste. Outro fator que evidencia que o modelo construído não é ajustado é que o valor de R^2 (21,20%) apresenta-se muito abaixo da variância máxima explicável, que é de 99,83%.

Tabela 20: Resultados da análise de regressão para pH, concentração de coagulante e velocidade lenta para a porcentagem de enxofre elementar recuperado utilizando Tanino como coagulante.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática
Regressão	4,7870E+07	6	7,9783E+06
Resíduos	1,7797E+08	13	1,3690E+07
Falta de Ajuste	1,7759E+08	2	8,8795E+07
Erro Puro	3,8459E+05	11	3,4963E+04
Total	2,2584E+08	19	
R^2	0,2120		
R^2 Explicável	0,9983		

O gráfico da Figura 12 mostra que os valores observados, representados pelos pontos, não acompanham a reta, que representa os valores preditos, evidenciando a falta de preditividade do modelo proposto para o PAC (Figura 12A) e para o tanino (Figura 12B).

A Figura 13 apresenta a superfície de resposta obtida para a porcentagem de enxofre elementar no sedimento, em função do pH e da concentração dos respectivos coagulantes. Para o PAC, a diminuição da dosagem e do pH resulta no aumento da porcentagem de enxofre elementar recuperado do sedimento. Nesse caso, apesar dos fatores pH e concentração de coagulante serem significativos, a interação entre os dois não demonstrou significância. Dessa maneira a superfície obtida apresentou baixa curvatura, assim como as superfícies resposta das Figura 15 e 16. Para o tanino, concentrações menores que 20 mg L^{-1} estão associadas a pH menores que 6,5, assim como concentrações superiores a 50 mg L^{-1} estão associadas a pH maiores que 8,5 propiciando a remoção de turbidez. A Figura 14 mostra a base da superfície resposta da Figura 13B.

A Figura 15 mostra a superfície de resposta de S^0 (%) em função da velocidade lenta e concentração de coagulante. Independente da velocidade lenta analisada a porcentagem de enxofre elementar recuperado atingiu os maiores valores quanto menor a concentração de PAC utilizado. De fato, assim como os experimentos anteriormente analisados, a velocidade lenta empregada no ensaio foi o fator que apresentou menor significância. Para o tanino, o aumento da velocidade lenta associado à diminuição da concentração de Tanino favorece a recuperação de S^0 do sedimento.

A Figura 16, que apresenta a superfície resposta em função da velocidade lenta e pH, indicou que em velocidades mais altas e baixo pH a recuperação de S^0 (%) se mostrou mais significativa para o PAC. Para o tanino, a porcentagem de S^0 recuperado aumentou com o aumento da velocidade lenta e diminuição do pH. Nota-se que ambas as superfícies apresentam baixa curvatura, indicando a baixa significância estatística que a relação entre os fatores apresenta. O modelo cinético desenvolvido por Chen *et al.* (2016) demonstrou que a interação entre o pH e as velocidades de agitação utilizadas (80 rpm, 120rpm e 160 rpm) afetaram a coagulação de S^0 utilizando PAC como coagulante, fenômeno que não foi identificado neste trabalho. Além disso, foi observada a remoção de S^0 em porcentagens de 4,21 – 45,9% enquanto que nas condições analisadas por Chen *et al.* (2016) a remoção de S^0 variou entre 20,6 – 96,7%. Remoções menores de S^0 podem ser explicadas pelas concentrações menores de PAC utilizadas nas condições analisadas: enquanto Chen *et al.* (2016) variou as concentrações de coagulante entre 1,3 - 3,3 mg PAC/mg S foram utilizadas concentrações entre 0,075 – 0,625 mg PAC/mg S. O modelo desenvolvido pelos autores utilizando PAC apresentou elevado coeficiente de correlação ($R^2 = 93\%$) indicando que o modelo foi capaz de explicar a maioria de total de relações. Vale ressaltar que os autores utilizaram o Planejamento Composto Central, enquanto que o modelo linear (2^k) utilizado no presente trabalho não se mostrou adequado para a descrição dos eventos analisados. Os métodos mais utilizados para a obtenção de um modelo polinomial com termos quadráticos são: planejamento composto central (CCD) e planejamento BOX-Behnken 3k (BBD). Sendo o CCD uma extensão do modelo linear (2^k), formado por um fatorial completo, planejamento estrela e replicatas do ponto central, enquanto o BBD as variáveis possuem três níveis (cúbico baixo, central e cúbico alto), cruzando o nível extremo das duas ou três variáveis do projeto com os valores médios das outras, além de incluir pontos centrais (SILVA, 2008). Ambos os planejamentos são utilizados para a obtenção de pontos ótimos, por meio da metodologia da superfície de resposta.

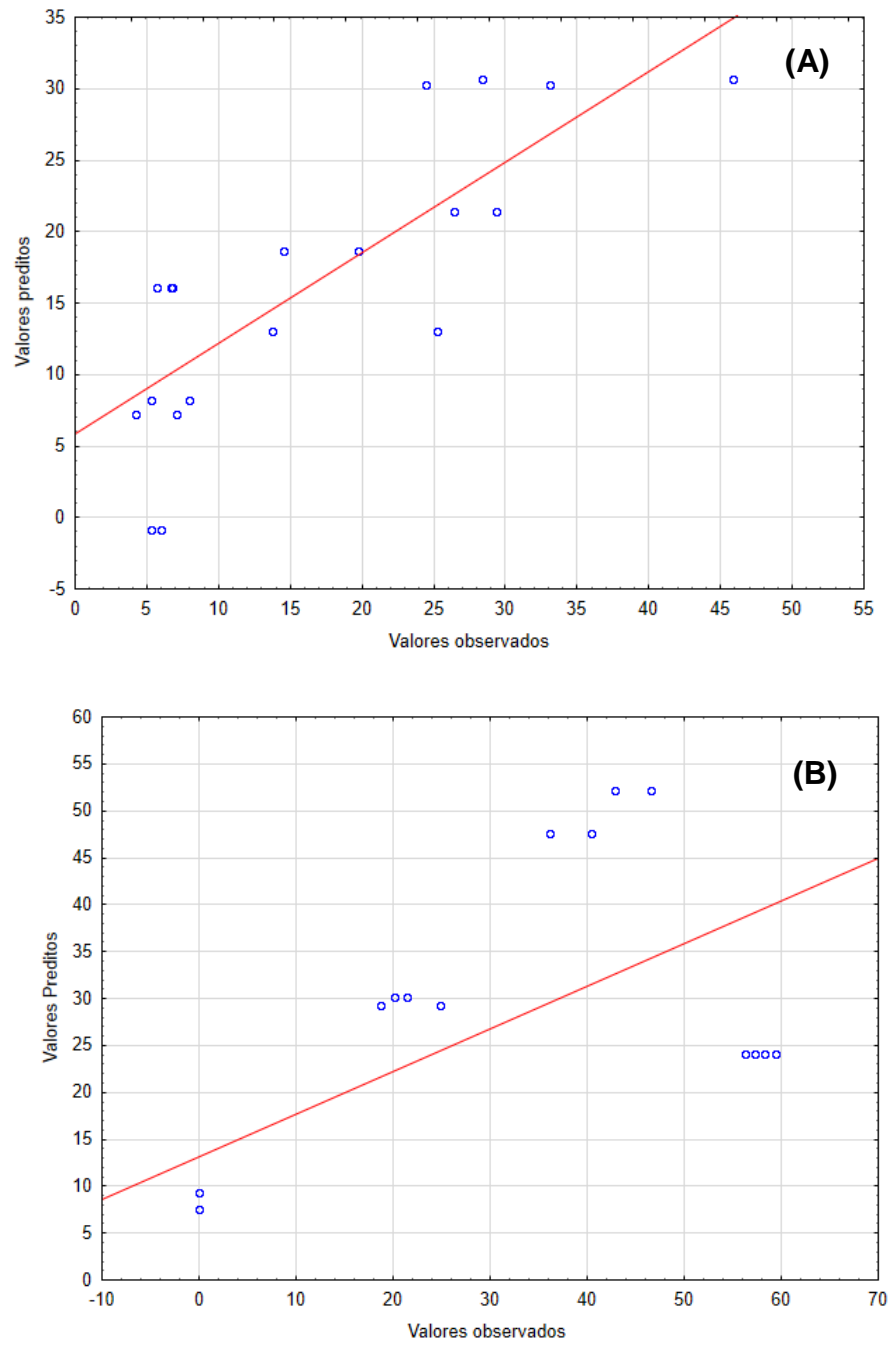


Figura 12: Valores observados versus valores preditos para a porcentagem de enxofre elementar recuperado utilizando A) PAC e B) Tanino.

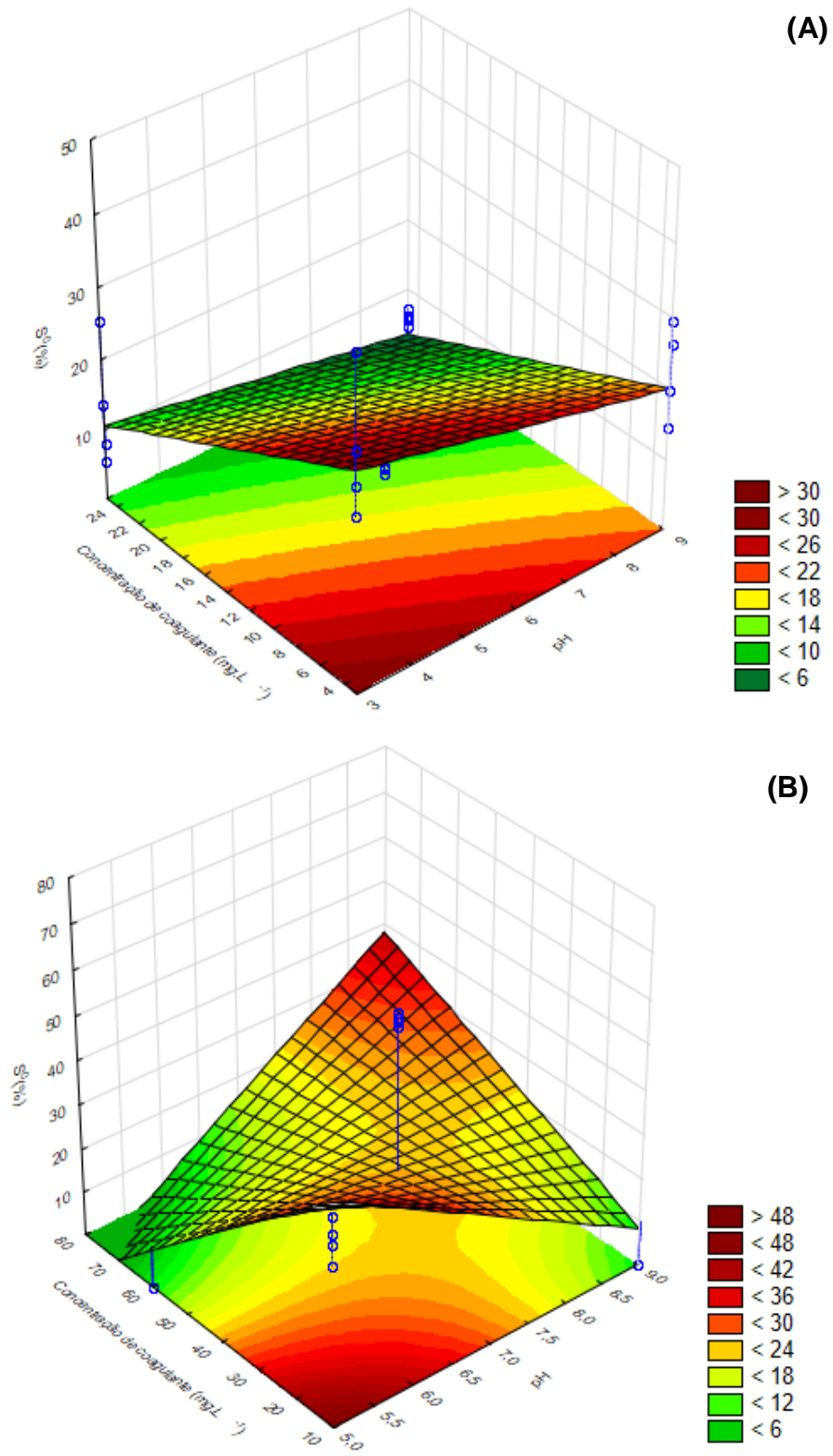


Figura 13: Superfície resposta da porcentagem de enxofre elementar recuperado em função do pH e concentração de coagulante utilizando A) PAC e B) Tanino

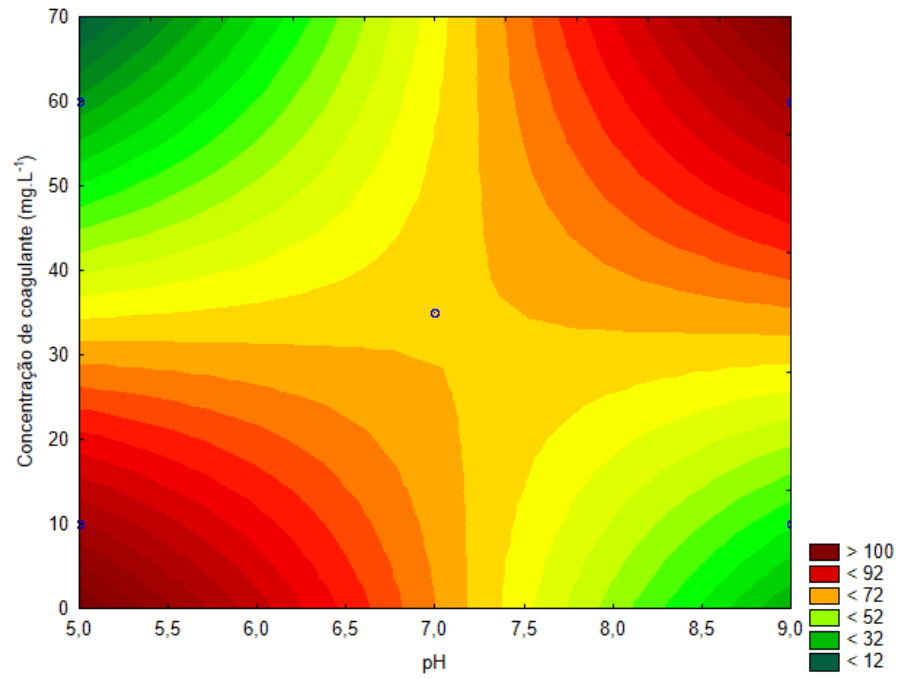


Figura 14: Curva de nível base da superfície resposta da recuperação de enxofre elementar em função da concentração de coagulante e pH utilizando Tanino.

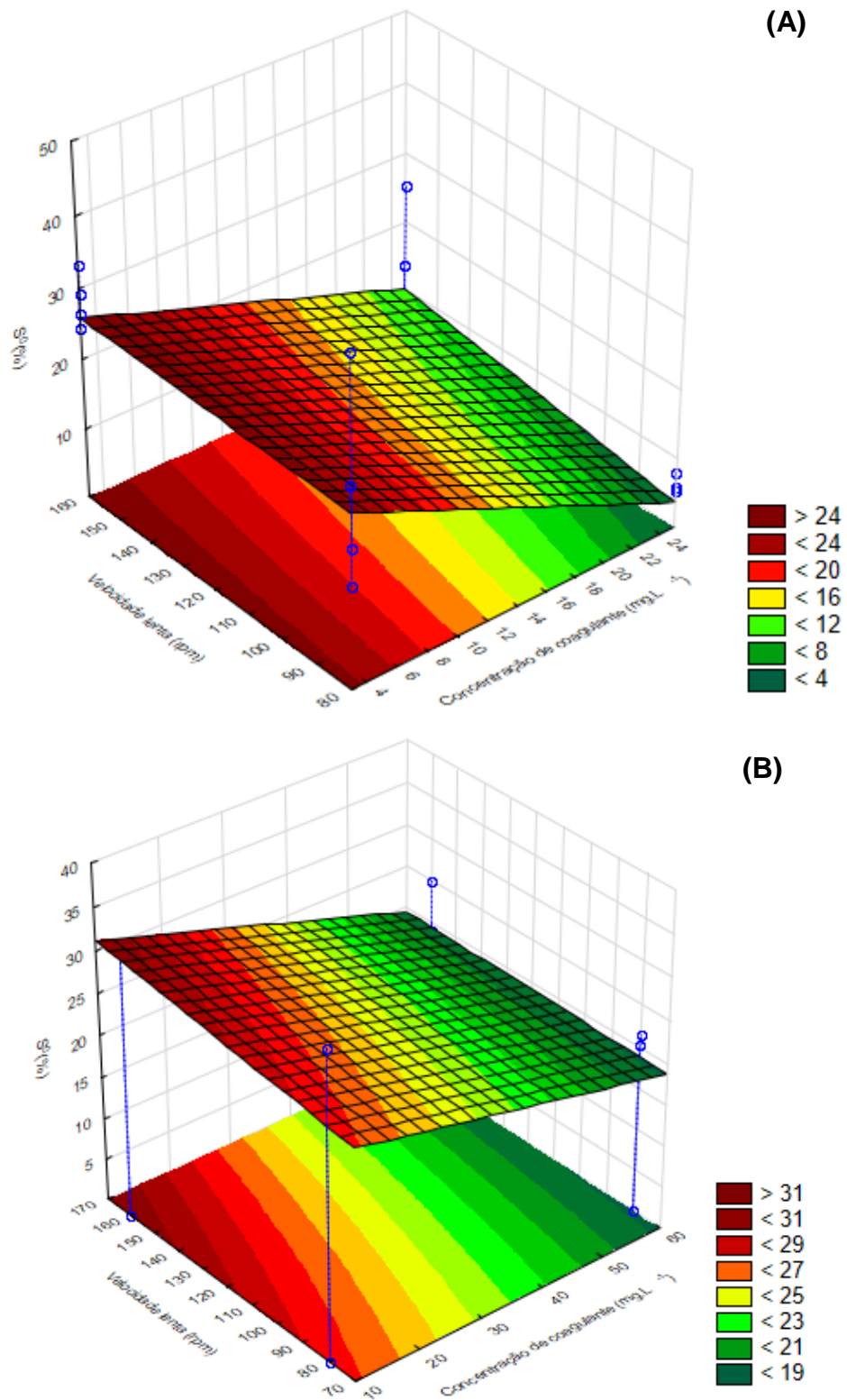


Figura 15: Superfície resposta da porcentagem de enxofre elementar recuperado em função da concentração de coagulante e velocidade lenta utilizando A) PAC e B) Tanino

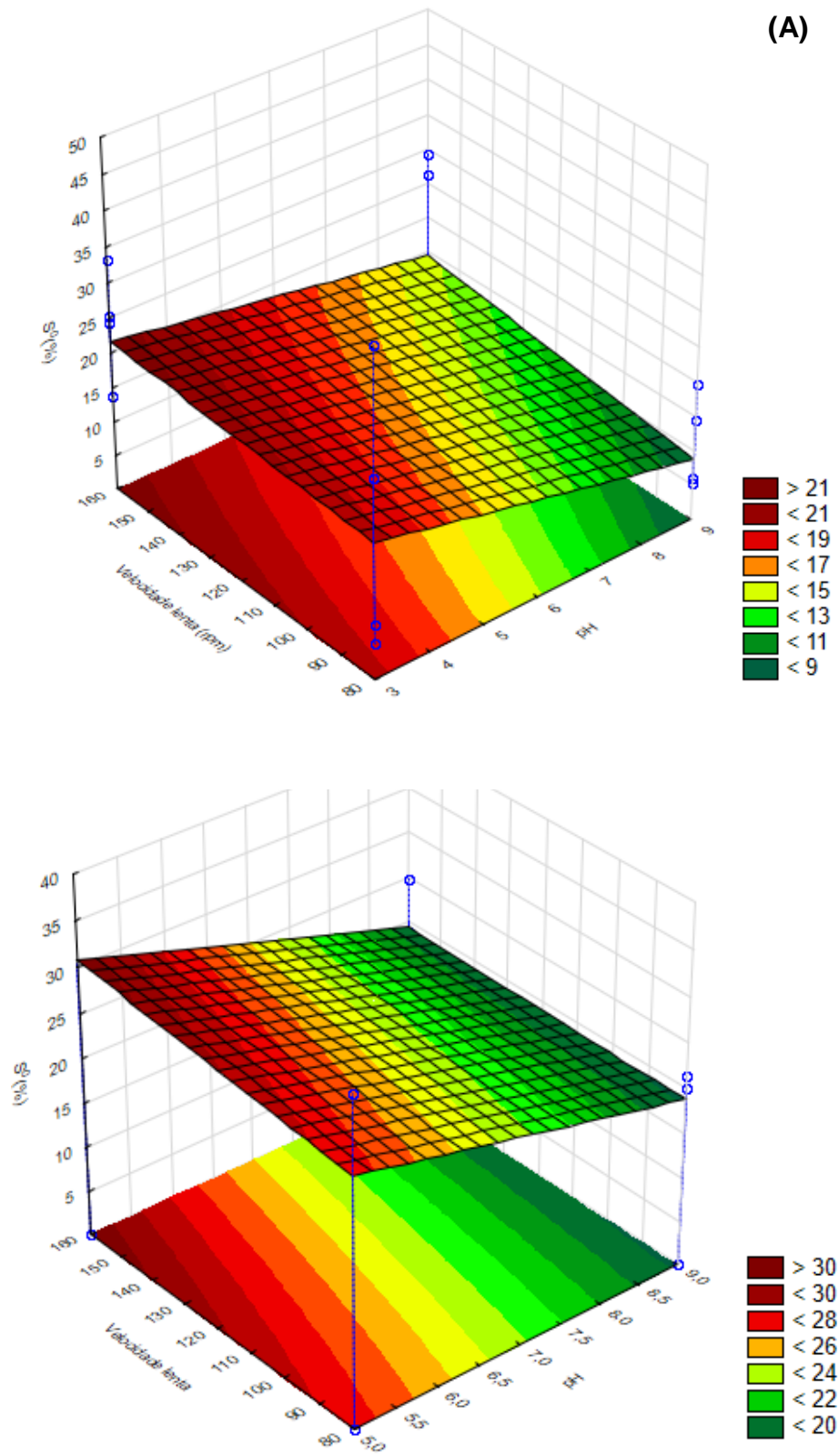


Figura 16: Superfície resposta da porcentagem de enxofre elementar recuperado em função do pH e velocidade lenta utilizando A) PAC e B) Tanino.

CAPÍTULO 4 - CONCLUSÃO

A desnitrificação autotrófica com uso de sulfeto como doador de elétrons, apesar de apresentar vantagens com a redução de custos de pós tratamento e alta viabilidade, demonstrou neste trabalho dificuldades operacionais que prejudicaram a remoção de nitrato do efluente. Foram gerados parâmetros cinéticos para as relações estudadas, porém vale ressaltar a influência que a oxidação de sulfeto por vias não previstas apresentou sobre a cinética, não sendo possível identificar se as velocidades analisadas se referem à desnitrificação autotrófica. Uma vez que o sulfeto empregado no sistema não foi consumido apenas pelas bactérias desnitrificantes, não foi possível fechar o balanço de massa tornando inexequível a identificação de quais relações N/S promoveram uma maior formação de enxofre elementar. Os ensaios de PCR-DGGE demonstraram pequenas alterações na diversidade microbiana com o emprego de relações N/S variadas.

Quanto a recuperação de S^0 os coagulantes utilizados apresentaram viabilidade técnica no processo, visto que baixas concentrações de coagulante foram capazes de remover enxofre elementar do efluente. A eficiência apresentada pelo Tanino é particularmente interessante uma vez que sua deposição final é menos danosa ao meio ambiente quando comparado a coagulantes inorgânicos amplamente utilizados em unidades de tratamento de efluentes, como o cloreto férrico.

Os resultados obtidos nas superfícies respostas indicam que não foi alcançada a região ótima. Um indicativo disso é que as superfícies não possuem picos de pontos críticos, apenas demonstram uma tendência de regiões ótimas. Além disso, o modelo linear não se mostrou adequado para a descrição dos eventos analisados. Segundo Barros Neto (2007) a não adequação de um modelo linear ainda pode ser um indicativo da proximidade do ponto ótimo, uma vez que nessa região a superfície resposta não é representada por um plano. Portanto faz-se necessária a realização de um novo planejamento fatorial que gere um modelo polinomial com termos quadráticos. Apesar dos modelos não estarem ajustados, uma nova região a ser estudada pode ser deslocada para onde as superfícies respostas apontam os melhores percentuais de recuperação de enxofre elementar.

REFERÊNCIAS

AMIRTHARAJH, A. & MILLS, K. M. (1982). Rapid mix design for mechanisms of alum coagulation. *J. AWWA*, V. 74, n. 4, p. 210 – 216, Apr.

BAILEY, J.E.; OLLIS, D.F. (1986). *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2ed, McGraw-Hill Book Company, 984p.

BARROS NETO, BENÍCIO DE, SCARMÍNIO, IEDA S., BRUNS, ROY E. (2007) *Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*. Editora da UNICAMP, Campinas. 3ª Ed. 476p.

BERISTAIN-CARDOSO,R.; SIERRA-ALVAREZ, R.; ROWLETTE, P.; RAZO-FLORES, E.; GÓMEZ, J.; FIELD, J. A. (2006). Sulfide oxidation under chemolithoautotrophic denitrifying conditions. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 95, n. 6, p. 1148-1157.

BRASIL, Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 19 jul. 2018.

BRINGI, V.; DALE, B.E. (1990). Experimental and theoretical evidence for convective nutrient transport in an immobilized cell support. *Biotechnology Progress*, v.6, n.3, p.205–209.

CALADO, VERÔNICA, MONTGOMERY, DOUGLAS C. (2003) *Planejamento de experimentos usando Statistica*. E-Papers Serviços Editoriais. Rio de Janeiro. 260p.

CAMILOTI, P. R. (2015). *Recuperação de enxofre elementar a partir de águas residuárias em reatores anaeróbico/microaerado*. São Carlos: Tese de doutorado. Universidade de São Paulo.

CANTO, C. S. A; RODRIGUES, J. A. D; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. (2008). Feasibility of nitrification/denitrification in a sequencing batch biofilm reactor with liquid circulation applied to post-treatment. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 644–654.

CAO, C.R., KE, J.M., CUI, G.F., WANG, K.J. (2002). Biological flue gas de-sulfurization technology in Netherlands. *Foreign Sci. Technol. China* 5, 38–39.

CHEN, F., YUAN, Y., CHEN, C., ZHAO, Y., TAN, W., HUANG, C., XU, X., WANG., A. (2016), Investigation of colloidal biogenic sulfur flocculation: Optimization using response surface analysis, *Journal of Environmental Sciences*, v. 42, p. 227-235.

CHERNICHARO, C. A. (2007). *Reatores Anaeróbios* (2 ed.). Belo Horizonte: UFMG.

CHYNOWETH, D.P.; PULLAMMANAPPALLIL, P. Anaerobic digestion of municipal solid wastes. IN: Palmisano, A.C. and Barlaz, M.A. (eds). *Microbiology of Solid Waste*. CrC Press, Inc., Boca Raton, Florida. p. 71-113, 1996.

DROSTE, R.L. E KENNEDY, K.J. (1987). Steady state kinetics of anaerobic downflow stationary fixed film reactors. *Water Science Technology*, v.19, p.275-285.

ETCHEBEHERE C. *Ecologia Microbiana e Ciclos Biogeoquímicos*. Florianópolis (Brasil): V Curso de Tratamento Biológico de Resíduos, 2005

FAJARDO, C., MORA, M., FERNÁNDEZ, I., MOSQUERA-CORRAL, A., CAMPOS, J.L., MÉNDEZ, R. (2014) Cross effect of temperature, pH and free ammonia on autotrophic denitrification process with sulphide as electron donor. *Chemosphere* 97, p. 10-15.

FORESTI, E.; ZAIAT, M.; VALERO, M. (2006). Anaerobic processes as the core technology for sustainable domestic wastewater treatment: Consolidates applications, 19 new trends, perspectives and challenges. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, v.5, p.3-19.

GRADY, C.P.I.; LIM, H.C. (1980). *Biological Wastewater Treatment: Theory and Applications*. Marcel Dekker, Inc, New York, 963p.

GUERRERO, R.B.S. *Biodessulfurização do biogás gerado no processo de digestão anaeróbia da estação de tratamento de efluentes de uma indústria cervejeira*. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2015.

HENZE, M.; HARREMOES, P.; JASSEN, J. C.; ARVIN, E. (1997). *Wastewater Treatment. Biological and Chemical Processes*. 2 ed. German: Springer.

JETTEN, M. S. M.; STROUS, M.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K. T.; SCHALK, J.; VAN DONGEN, U. G. J. M.; VAN DE GRAAF, A. A.; LOGEMANN, S.; MUYZER, G.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; KUENEN, J. G. (1999). The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 22, p. 421-437.

JETTEN, M.S.M.; SLIEKERS, A. O.; THIRD, K. A.; ABMA, W. e KUENEN, J.G.. CANON and Anammox in a gas-lift reactor. *FEMS Microbiology Letters*. Vol. 218, p. 339-344, 2003.

JORDÃO, E.; PESSÔA, C.A. Tratamento de esgotos domésticos. 7. ed. Rio de Janeiro: ABES, 2014.

LENS P. N. L. e KUENEN J. G. The biological sulfur cycle: new opportunities for environmental biotechnology. *Water Science Technology*. Vol.. 44, No.8, p. 57-66, 2001.

LEVENSPIEL, O. (1999). *Chemical Reaction Engineering*. 3ed., John Wiley & Sons Inc., EUA, 563p.

MADIGAN, M., MARTINKO, J., DUNLAP, P., & CLARK, D. (2010). *Microbiologia de Brock*. Porto Alegre: Artmed.

MANCONI, I.; CARUCCI, A.; LENS, P. (2007). Combined removal of sulfur compounds and nitrate by autotrophic denitrification in bioaugmented activated sludge system. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 98, p. 551-560.

MENDES, C. G. (1989). Estudo da coagulação e floculação de águas sintéticas e naturais com turbidez e cor variáveis. São Carlos: Tese de doutorado. Universidade de São Paulo.

METCALF E EDDY. Inc (2003) *Wastewater Engineering – Treatment and reuse*. 4 ed. New York, McGraw-Hill International edition, 1819p.

NAKADA, L. Y. (2011). Tratamento de água pluvial para fins não potáveis com utilização de amido de milho como coagulante em filtração cíclica em escala de laboratório. Manaus: Universidade Estadual Paulista.

NIELSEN, A. T.; LIU W. T.; FILIPE, C.; GRADY, L.; MOLIN, S.; STAHL, D. A. (1999). Identification of a novel group of bacteria in sludge from a deteriorated biological phosphorus removal reactor. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, n. 3, p. 1251-1258.

OLIVEIRA DINIZ, R. C. (2015). Estrutura e dinâmica da comunidade bacteriana presente em reatores de oxidação biológica de sulfeto. 94p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia da UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais.

PANTOJA FILHO, J. (2011). Remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogênio em Reator Aeróbio-Anóxico de Leito Fixo (RAALF) aplicado ao pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio. São Carlos: Universidade de São Paulo.

PAVANELLI, G. (2001). Eficiência de diferentes tipos de coagulantes na coagulação, floculação e sedimentação de água com cor ou turbidez elevada. São Carlos: Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo.

PAVLOSTATHIS S.G., GIRALDO-GOMEZ E., (1991), Kinetics of anaerobic treatment, *Water Science and Technology*, 24, 35-59.

SANTOS, H. R. (2006). Coagulação/precipitação de efluentes de reator anaeróbio de leito expandido e de sistema de lodo ativado precedido de reator UASB, com remoção de partículas por sedimentação ou flotação. São Carlos: Tede de doutorado. Universidade de São Paulo.

SCHMIDELL, W. e REGINATTO, V.S. Remoção de nitrogênio. In: Tratamento biológico de águas residuárias. 1ª Edição. Florianópolis, 2007.

SCHMIDT, I. SLIEKERS, O., SCHMID, M. BOCK, E. FUERST, J.; KUENEN, J.G.; JETTEN, M.S.M.; STROUS, M. (2003). New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 27, n. 4, p 481-492.

SCHOLZ, M. Coagulation and Flocculation. *Wetlands for Water Pollution Control*, p. 37–46, 2016.

SILVA FILHO, L. F. (2009). Avaliação da remoção de sulfeto de hidrogênio do gás natural em uma coluna de absorção. 96p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

SILVA, ANDRÉIA S. (2008) Avaliação da secagem do bagaço de cajá usando planejamento fatorial composto central. Dissertação de Mestrado: Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal. Rio Grande do Norte. 70f.

SILVA, T. S. (1999). Estudo de tratabilidade físico-química com uso de taninos vegetais em água de abastecimento e de esgoto. Dissertação de Mestrado: Fundação Oswaldo Cruz.

SILVA, T. S. (1999). Estudo de tratabilidade físico-química com uso de taninos vegetais em água de abastecimento e de esgoto. Dissertação de mestrado. Escola Nacional de Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz.

TSUTIYA, M.T. et al. *Biossólidos na Agricultura*. 2 ed. São Paulo: ABES/SP, 2002.468p.

VIEIRA, L. G. T. (1996). Estimativa de parâmetros cinéticos intrínsecos de utilização de substrato por lodo anaeróbio imobilizado. 63p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

VON SPERLING, Marcos. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3. ed. 4. reimp. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 2009.

YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. (2007). Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira. Piracicaba: IPNI, 2007. P. 355-412

YUAN, Y., WANG, A., MA, S., CHEN, C., ZHAO, Y., TAN, W., et al. (2014). Distribution characteristics and separation of biological sulfur in denitrifying sulfide removal process. J. Harbin Inst. Technol. China 46 (8), 34–39.

ZHANG, T.C.; LAMP, D.G. (1999). Sulfur: limestone autotrophic denitrification processes for treatment of nitrate-contaminated water: batch experiments. Water Research, v. 33, n. 3, p. 599-608.