

SAMIR PRIOTO TAYAR

Estudo de bioprocessos redutivos de sulfato e oxidativos de sulfeto visando
tratamento de resíduos líquidos e gasosos

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Biotecnologia

Orientadora: Profa. Dra. Denise Bevilaqua

Araraquara
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

T236e Tayar, Samir Prioto
Estudo de bioprocessos redutivos de sulfato e oxidativos
de sulfeto visando tratamento de resíduos líquidos e
gasosos / Samir Prioto Tayar. – Araraquara : [s.n.], 2018
79 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Denise Bevilaqua
Coorientador: Arnaldo Sarti

1. Resíduos industriais. 2. Tecnologia de bioprocessos.
3. Sulfetos. 4. Biorreatores. 5. Oxidação. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

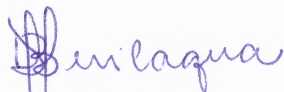
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Estudo de bioprocessos redutivos de sulfato e oxidativos de sulfeto visando tratamento de resíduos líquidos e gasosos"

AUTOR: SAMIR PRIOTO TAYAR

ORIENTADORA: DENISE BEVILAQUA

COORIENTADOR: ARNALDO SARTI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em BIOTECNOLOGIA, pela Comissão Examinadora:



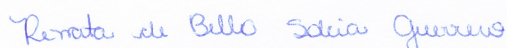
Profa. Dra. DENISE BEVILAQUA

Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Profª Drª LORENA OLIVEIRA PIRES

Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Profª Drª RENATA DE BELLO SOLCIA GUERRERO

Departamento de Hidráulica e Saneamento / Escola de Engenharia - Universidade de São Paulo - USP - São Carlos

Araraquara, 09 de março de 2018

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Samir Prioto Tayar

Nascimento: 05/11/1993

Filiação: Semi Tayar Neto e Nelcy Aparecida Prioto

Estado civil: Solteiro

Email: samir.ptayar@gmail.com

Nome em citações bibliográficas: Tayar, S. P.

FORMAÇÃO ACADÊMICA

Bacharel em Química pela Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, concluído em Dezembro de 2015.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos:

HIDALGO, L. F. et al. Evaluation of Substrate Consumption Kinetics in Different Support Materials for Biotrickling Filters Aiming Biogas Desulfurization. **Solid State Phenomena**, v. 262, p. 682-686, 2017.

Trabalhos publicados em anais de congressos científicos:

HIDALGO, L. F.; SANTOS, J. L.; TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C.; BEVILAQUA, D. Avaliação do consumo de tiosulfato em diferentes suportes para biofiltros percoladores visando a biodessulfurização de biogás. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 2017, São Carlos. Blucher Chemical Engineering Proceedings, 2016. v. 1. p. 1915-1920.

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . Método Alternativo para extração de terras raras a partir de fosfogesso utilizando micro-organismos acidófilos. In: XXVI Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, 2015, Poços de Caldas. Encontro Nacional de tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa. São Paulo: Associação Brasileira de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, 2015. v. 1. p. 301-308.

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . Método Alternativo para extração de terras raras a partir de fosfogesso utilizando micro-organismos acidófilos. In: XXVI Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, 2015, Poços de Caldas. Livro de Resumos. São Paulo: Associação Brasileira de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, 2015. v. 1. p. 64-64.

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . Bioextração de terras raras a partir de fosfogesso por *Acidithiobacillus thiooxidans*. In: 2ª Fase - XXVII Congresso de Iniciação Científica, 2015, Atibaia. Melhores Trabalhos do XXVII CIC, 2015.

Apresentações de trabalhos/palestras:

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; SARTI, A. ; GUERRERO, R. B. S. ; BEVILAQUA, D. . Hydrogen sulfide removal from biogas using biotrickling filter packed with an alternative support material. 2017. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; SARTI, A. ; BEVILAQUA, D. . Study of sulfate reduction with low retention time in an anaerobic horizontal fixed-bed bioreactor packed with mineral coal. 2017. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . Biossolubilização de terras raras a partir de fosfogesso utilizando *Acidithiobacillus thiooxidans*. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . Método Alternativo para extração de terras raras a partir de fosfogesso utilizando micro-organismos acidófilos. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . Bioextração de terras raras a partir de fosfogesso por *Acidithiobacillus thiooxidans*. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . 2ª Fase Bioextração de terras raras a partir de fosfogesso por *Acidithiobacillus thiooxidans*. 2015. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

Patentes:

TAYAR, S. P.; PALMIERI, M. C. ; BEVILAQUA, D. . MÉTODO DE PROCESSAMENTO DE TERRAS RARAS MEDIANTE BIOEXTRAÇÃO INDIRETA. 2016, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10201601177, título: "MÉTODO DE PROCESSAMENTO DE TERRAS RARAS MEDIANTE BIOEXTRAÇÃO INDIRETA" , Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Depositante (s): Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Depósito: 24/05/2016Instituição(ões) financiadora(s): FAPESP.

Dedico esta dissertação à minha família!

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Profa. Dra. Denise Bevilaqua por toda atenção dada e estar presente mesmo em momentos críticos, por me direcionar e mostrar o caminho durante toda essa jornada. Sua visão de mundo sempre proporcionou um ambiente de trabalho amigável, de muita colaboração e isso é extremamente raro nos dias atuais, te admiro!

A meus pais e toda minha família, que sempre me apoiaram durante toda essa longa jornada que já durou 6 anos desde que saí de casa, o apoio de vocês foi uma das coisas que mais me motivou e sem isso não conseguiria chegar até aqui.

Agradeço a meus amigos Rodrigo, Douglas e Renan pelas quartas feiras em que saíamos do ambiente acadêmico para o virtual, rsrs. A Martín Ramírez, Domingo Cantero, Gema Cabrera, Patricio Cano, Luis Fernando Saldarriaga, Javier Brito, Xiomara Gomez Quiroga, Zamira Soto, Elena Calle, Fernando Amengló por el apoyo científico y personal em toda la estancia que hice com vosotros. Aos meus colegas de laboratório pela convivência saudável e pelas discussões de trabalho. Agradecimento especial a Jhennifer que esteve comigo em momentos tão diversos e me ajudou a quebrar diversas barreiras.

Ao Instituto de Química por proporcionar toda a infraestrutura necessária para o desenvolvimento desta dissertação. A Universidad de Cádiz por me acolher durante o período de intercâmbio.

A FAPESP, pela bolsa de mestrado (Processo 2016/01299-8) e BEPE (Processo 2016/23494-7) fornecidos durante o mestrado.

RESUMO

O ciclo do enxofre na natureza está diretamente relacionado a vida e por isso seu equilíbrio é de extrema importância, fazendo com que sejam necessários tratamentos dos resíduos industriais contendo enxofre, sejam eles sólidos, líquidos ou gasosos. Neste trabalho foram realizados estudos de biorreatores visando realizar o tratamento de resíduos líquidos de enxofre pelo processo de redução de sulfato e também de resíduos gasosos, o biogás contendo ácido sulfídrico, através de sua oxidação.

O estudo do bioprocesso redutivo foi realizado utilizando o planejamento fatorial central composto para otimização da produção de sulfeto e eliminação de sulfato de água residuária, através das variáveis tempo de residência (T_r), concentração de sulfato inicial e relação DQO/sulfato, em biorreatores contínuos de leito fixo. Os resultados destes experimentos mostraram que a maior produção diária de sulfeto ocorre em tempo de residência de 15 horas, com relação DQO/sulfato de 2,0 e concentração inicial de sulfato superior a 3000 mg L⁻¹. A maior porcentagem de eliminação de sulfato ocorre em tempos de residência de 25-35 horas com concentrações de sulfato inicial inferiores a 1000 mg L⁻¹. E a maior quantidade diária de sulfato eliminada ocorre com tempo de residência de 25 horas e concentração inicial de sulfato próxima a 2250 mg L⁻¹.

O bioprocesso para oxidação de H₂S utilizando biofiltro percolador contendo tiras de PVC como uma alternativa aos materiais suportes tradicionais mostrou-se capaz de realizar o tratamento do biogás da estação de tratamento de esgotos de Matão. Com tempo de residência de 4,8, 2,4 e 1,6 minutos, as porcentagens de eliminação de H₂S foram 60,06 ± 13,81%, 71,89 ± 14,33 % e 89,83 ± 14,97% respectivamente. A temperatura ótima determinada para este processo foi de 35,3 a 36,7 °C e as medidas de biogás nas alturas do biorreator mostraram que quase toda remoção de contaminante acontece no início do reator, indicando que ele tem potencial para tratar cargas muito maiores de contaminante.

Palavras-chave: Eliminação de sulfato, eliminação de sulfeto, bioprocessos, ciclo do enxofre, materiais suporte, biofiltro percolador, reatores contínuos.

ABSTRACT

The sulfur cycle in nature is directly related to life and which makes its equilibrium very important, bringing the need of treatments of solid, liquid or gaseous industrial wastes containing this element. This work present the study of bioreactors aiming to treat liquid and gaseous residues containing the sulfur element by the sulfate reducing and sulfide oxidizing processes.

The reductive bioprocess study was carried out using central composite experimental design to optimize the sulfide production and sulfate elimination from wastewaters, through the optimization of retention time, initial sulfate concentration and DQO/sulfate ratio in Fixed-bed continuous bioreactors. The results of these experiments showed that higher daily sulfide production occurs in 15 hours of retention time with the DQO/sulfate ratio of 2.0 and initial sulfate concentration bigger than 3000 mg L⁻¹. Higher sulfate elimination percentage was obtained with retention time of 25-35 hours with initial sulfate concentration lower than 1000 mg L⁻¹. And the highest sulfate amount eliminated daily was obtained in 25 hour of retention time and 2250 mg L⁻¹ of initial sulfate concentration.

The bioprocess for H₂S oxidation using biotrickling filter containing PVC stripes as an alternative support material was able to treat the biogas of the Matão sewage treatment plant. With retention time of 4.8, 2.4 and 1.6 minutes, the sulfide elimination percentage was 60,06 ± 13,81%, 71,89 ± 14,33 % e 89,83 ± 14,97% respectively. The optimum temperature range determined for this process was 35,3-36,7 °C and the biogas measures in different heights of the bioreactor showed that the H₂S was almost totally removed in the beginning of the process, showing that the system may be able to treat higher load of this contaminant.

Keywords: Sulfate elimination, sulfate reduction, sulfide elimination, bioprocess, sulfur cycle, support material, biotrickling filter, continours reactor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo natural do enxofre.	18
Figura 2: Esquema representativo de um biolavador	23
Figura 3: Representação esquemática de um biofiltro.	24
Figura 4: Esquema representativo de um biofiltro percolador.	25
Figura 5: Esquema experimental do RAHLF	27
Figura 6: Cubo de espuma de poro aberto de poliuretano usada como material suporte para crescimento de micro-organismos.....	31
Figura 7: Imagem do Reator A para otimização da produção de sulfeto (A) e Desenho do sistema de otimização de produção de sulfeto (B).....	31
Figura 8: Imagem do reator B para otimização da eliminação de sulfato (A) e Desenho do sistema de otimização de eliminação de sulfato (B).	33
Figura 9: Esquema experimental do biofiltro percolador. 1. Reservatório de água; 2. Bomba de vácuo; 3. Rotâmetro de biogás/H ₂ S; 4. Biofiltro percolador; 5. Difusor; 6. Bomba de recirculação de nutrientes; 7. Banho térmico; 8. Rotâmetro de circulação de nutriente	36
Figura 10: Biofiltro percolador em escala de bancada no 5º e 40º dia de operação.	38
Figura 11: Porcentagem de eliminação de sulfato e concentrações deste íon no afluente aplicado ao biorreator.	41
Figura 12: Valores de pH do afluente e efluente do biorreator durante o período de operação.	42
Figura 13: Superfície de resposta tridimensional (A) e de contorno (B) para porcentagem de remoção de sulfato em função das variáveis concentração de sulfato inicial e relação DQO/sulfato.	44
Figura 14: Superfícies de resposta 3D (A) e de contorno (B) para porcentagem de remoção de sulfato em função da concentração de sulfato inicial e tempo de residência.	45
Figura 15: Superfícies de resposta 3D (A) e de contorno (B) para carga diária de sulfato removida em função das variáveis concentração de sulfato inicial e tempo de residência.	47

Figura 16: Superfícies de resposta 3D (A) e de contorno (B) para carga diária de sulfato removida em função das variáveis concentração de sulfato inicial e relação DQO/sulfato.....	48
Figura 17: Concentração de sulfeto e sulfato no reator A.	50
Figura 18: Resposta da produção de sulfeto pelas variáveis tempo de residência e concentração de sulfato inicial no Reator A. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).....	51
Figura 19: Resposta da produção de sulfeto das variáveis tempo de residência e Relação DQO/sulfato no Reator A. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).	53
Figura 20: Resposta da produção de sulfeto pelas variáveis Concentração de sulfato inicial e relação DQO/sulfato no Reator A. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).....	54
Figura 21: Resposta para Porcentagem de eliminação de sulfato das variáveis tempo de residência e Concentração de sulfato no Reator A. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).	56
Figura 22: Resposta da Porcentagem de eliminação de sulfato para as variáveis tempo de residência e relação DQO/sulfato no Reator A. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).	58
Figura 23: Resposta da Porcentagem de eliminação de sulfato para as variáveis Concentração de sulfato inicial e relação DQO/sulfato no Reator A. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).....	60
Figura 24: Concentrações de sulfeto e sulfato no reator B.	61
Figura 25: Resposta da Eliminação de sulfato diária das variáveis tempo de residência e Concentração de sulfato inicial no Reator B. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).	62
Figura 26: Resposta da Porcentagem de eliminação de sulfato das variáveis Tempo de residência e Concentração de sulfato inicial no Reator B. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).....	64
Figura 27: Resposta para Produção sulfeto das variáveis Tempo de residência e Concentração de sulfato inicial no Reator B. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).....	66

Figura 28: Resposta da Porcentagem de conversão etanol-acetato das variáveis Tempo de residência e Concentração de sulfato inicial no Reator B. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).....	67
Figura 29: Formação de enxofre elementar sobre o material suporte.....	68
Figura 30: Porcentagem de remoção e cargas de afluente e efluente durante 111 dias de experimento.	69
Figura 31: Estudo da carga de enxofre removida em relação a carga fornecida.	70
Figura 32: Estudo da influência da temperatura na capacidade de eliminação.	72
Figura 33: Porcentagem de remoção de sulfeto com relação a carga de entrada e temperatura diária.	72
Figura 34: Estudo da remoção de gás em diferentes alturas do biofiltro percolador.	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentração de sulfato inicial fornecida ao RAHLF no período de imobilização da biomassa, relação DQO/sulfato mantida igual a 2,0.....	28
Tabela 2: Níveis das variáveis utilizadas no planejamento fatorial em dois níveis.	28
Tabela 3: Descrição das variáveis estudadas em cada experimento.....	29
Tabela 4: Valores experimentais dos parâmetros estudados para otimização da produção de sulfeto no Reator A.....	34
Tabela 5: Valores experimentais dos parâmetros estudados para otimização da eliminação de sulfato no Reator B.....	35
Tabela 6: tempo de residência e carga fornecida nos períodos de operação do Biofiltro Percolador em escala de bancada.	39
Tabela 7: ANOVA respectiva a Porcentagem de remoção do RAHLF.....	42
Tabela 8: ANOVA respectiva a Carga diária de sulfato removida do RAHLF. .	46

SUMÁRIO

1. Introdução	15
2. Revisão Bibliográfica.....	18
2.1. Ciclo do enxofre.....	18
2.2. Legislação e impacto do sulfato	18
2.3. Processos químicos de tratamento de sulfato	19
2.4. Efeito da presença de sulfato em reatores metanogênicos	19
2.5. Redução de sulfato e formação de sulfeto	20
2.6. Produção de sulfeto em biorreatores.....	21
2.7. Tratamentos químicos de sulfeto.....	22
2.8. Processos biológicos de eliminação de H ₂ S.....	22
3. Objetivos	26
3.1. Objetivos específicos.....	26
4. Materiais e métodos	27
4.2. Descrição e crescimento do inóculo para reatores A e B	29
4.3. Descrição dos reatores de leito fixo e fluxo ascendente.....	30
4.4. Operação dos Reatores A e B.....	34
4.4.1. Variáveis estudadas e metodologia de análise dos dados dos reatores A e B	34
4.5. Descrição do Biofiltro Percolador em escala de bancada	35
4.5.1. Descrição do material suporte.....	36
4.5.2. Operação do Biofiltro Percolador em escala de bancada	37
4.6. Análises químicas.....	39
5. Resultados e Discussão.....	40
5.1. Resultados Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo	40
5.2. Resultados dos reatores A e B	49
5.2.1. Reator A para otimização da produção de sulfeto	49
5.2.2. Reator B para otimização da eliminação de sulfato	61
6. Conclusões	75

1. Introdução

Algumas bactérias e arqueias tem a capacidade de oxidar compostos reduzidos de enxofre, como os sulfetos minerais presentes em locais próximos de minas, acidificando rios e lagos pela produção de sulfato e formando o que é conhecido como drenagem ácida de minas (DAM). Em alguns lugares isso acontece de forma extrema, como no Rio Tinto na Espanha que apresenta valores de pH próximo de 2 além de altas concentrações de metais como ferro, cobre e zinco (Lopez-Archilla *et al.*, 2001). Este tipo de problema também ocorre nos estados de Illinois e Ohio nos EUA onde micro-organismos geram drenagem ácida em minas de carvão a décadas (Behum *et al.*, 2011; Lefticariu *et al.*, 2015). Além da DAM, o sulfato também é um problema em algumas indústrias químicas pela sua presença em alta concentração nas águas residuais, como por exemplo indústrias de sulfonação de óleos vegetais, que gera resíduos ricos em sulfato de amônio.

As descargas indiscriminadas de águas contendo sulfato podem prejudicar a qualidade dos rios, interferir no ciclo natural do enxofre e em zonas anaeróbias, onde o sulfato pode ser reduzido a sulfeto, aumentando a demanda de oxigênio (Sarti *et al.*, 2008). Devido à gravidade dos problemas gerados pela presença de sulfato, no estado de São Paulo a Lei nº 997 de 31 de maio de 1976 estabelece concentração máxima deste íon de $1,00 \text{ g L}^{-1}$ (SO_4^{2-}) em efluentes líquidos lançados a corpos receptores. Por esses motivos, foram propostos vários métodos na literatura para tratamento de efluentes contendo esse ânion, sendo eles químicos e/ou biotecnológicos.

Os processos químicos geralmente utilizam compostos alcalinos para elevar o pH da DAM. Para isso geralmente é utilizado óxido de cálcio (CaO) para formação de gesso (CaSO_4), remoção o sulfato da solução. Processos de osmose reversa e troca iônica podem ser utilizados para remoção de sulfato de maneira muito mais efetiva, mas não são empregados atualmente devido ao alto custo (Nancucheo e Johnson, 2014).

Uma alternativa mais viável economicamente é o uso de micro-organismos redutores de sulfato (MRS) em biorreatores anaeróbios, que fazem a conversão do sulfato a sulfeto a partir de DAM (Nancucheo e Johnson, 2014) e de águas residuais de indústrias químicas (Sarti e Zaiat, 2011). Este tipo de

reator também foi empregado para precipitação de metais contidos em DAM, onde o ácido sulfídrico produzido reage com os metais em solução (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} e Ag^{2+}) formando os respectivos sulfetos metálicos (Kaksonen e Puhakka, 2007).

Entretanto este processo de precipitação não utiliza todo o H_2S produzido pelos MRS, liberando grande parte do gás produzido para a atmosfera e gerando problemas na região devido à sua toxicidade (gás sulfídrico é letal em concentração acima de 500 ppmv) (Atsdr, 2014) e forte odor característico. Por estes motivos há a necessidade de se tratar o ácido sulfídrico produzido durante os processos de redução de sulfato.

Existem diversos processos químicos de tratamento de H_2S como por exemplo por adsorção química em malhas de óxido de ferro, hidróxido de ferro e óxido de zinco formando seus respectivos sulfetos metálicos e transformando o enxofre em uma forma menos tóxica (Ryckebosch *et al.*, 2011). Outra técnica para remoção deste gás é o uso de soluções de NaOH que promovem a reação de neutralização do ácido sulfídrico formando Na_2S e NaHS , porém esse tratamento apresenta a desvantagem de que o sulfetos de sódio gerado precisa ser posteriormente tratado (Ramirez *et al.*, 2011).

Visto que os processos químicos apresentam desvantagens como formação de resíduos tóxicos e alto custo operacional, os métodos biotecnológicos tem ganhado destaque por serem menos prejudiciais ao meio ambiente, possuem menor custo operacional e fácil manutenção (Mudliar *et al.*, 2010; Guerrero e Bevilaqua, 2015). Dentre os métodos biotecnológicos para o tratamento do gás sulfídrico, os mais tradicionais são os biolavadores, biofiltros e biofiltros percoladores (Ramirez *et al.*, 2011).

Dentre os três citados, recentemente tem crescido o interesse pelo uso dos biofiltros percoladores, que são similares aos biofiltros convencionais, porém com uso de meio suporte feito de material inerte e alimentação contínua da fase líquida, o que facilita o controle do pH, umidade, temperatura e remoção de metabólitos acumulados (Kennes *et al.*, 2009). O meio suporte neste biorreator precisa facilitar o fluxo de gás e líquido, favorecer o desenvolvimento da microflora e ser resistente a compactação. Dentre os mais utilizados por essas características estão as espumas de poliuretano, cerâmicas, e anéis de policloreto de polivinila e polipropileno (Mudliar *et al.*, 2010; Fernandez *et al.*,

2013).

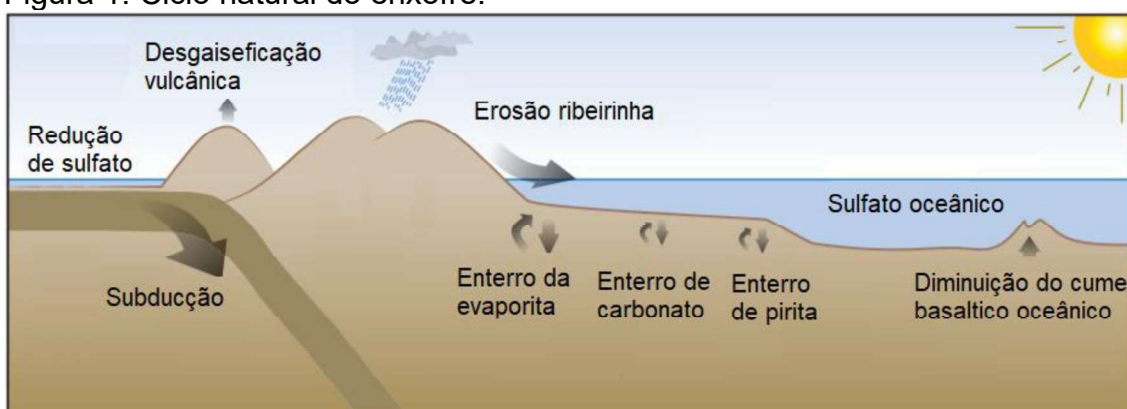
Tendo em vista os bioprocessos relacionados ao enxofre, o presente trabalho buscou realizar o tratamento de sulfato em águas residuárias de uma indústria de sulfonação utilizando biorreatores de leito fixo em processo contínuo e otimizar este processo com relação a eliminação de sulfato e produção de sulfeto utilizando planejamento fatorial. Também foram realizados experimentos relacionados a eliminação de H_2S produzido por uma estação real de tratamento de esgotos, utilizando um biofiltro percolador, fazendo com que este trabalho tenha estudado tanto o processo redutivo quanto oxidativo do enxofre, trazendo alternativas tanto para problemas onde o sulfato está em excesso em águas residuárias e não pode ser lançado a corpos receptores, quanto para quando o sulfeto de hidrogênio é produzido em grande quantidade e não pode ser lançado a atmosfera.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Ciclo do enxofre

Naturalmente ocorre um equilíbrio do ciclo do enxofre, onde o sulfato marinho é precipitado e enterrado na forma de evaporita, assim como carbonatos associados a compostos de enxofre. A precipitação e enterro de pirita ocorre a partir da formação de sulfeto por micro-organismos redutores de sulfato em regiões anaeróbicas no fundo de rios e oceanos. Desconsiderando a influência do ser humano no processo, o lançamento de enxofre para a atmosfera é principalmente proveniente de emissões vulcânicas e spray marinho. E por fim, o processo de subducção é o responsável pelo enterro de grandes quantidades de compostos de enxofre para baixo das placas tectônicas a partir de suas movimentações (Fike *et al.*, 2015).

Figura 1: Ciclo natural do enxofre.



Fonte: Adaptado de (Fike *et al.*, 2015)

Devido a direta relação entre o ciclo do enxofre e do carbono, onde desequilíbrio em um deles interfere no mecanismo de ação do outro, traz-se a preocupação pelas descargas indiscriminadas de compostos de enxofre na natureza, tanto na forma gasosa quanto na forma líquida, e a partir disso foram criadas diversas leis que regulamentam estas emissões por países em todo o mundo.

2.2. Legislação e impacto do sulfato no ambiente

Atualmente as legislações em vigor no Brasil com respeito a lançamento de sulfato em corpos receptores são a Federal de Controle da Poluição ambiental

através do CONAMA de 18 de junho de 1986 que delimita máximo de 250 mg L^{-1} de sulfato e a lei Nº 997 de 31 de maio de 1976 do estado de São Paulo que delimita $1,00 \text{ g L}^{-1}$ de sulfato lançados a corpos receptores. Entretanto, segundo Lens *et al* (1998), as emissões de sulfato não são uma ameaça direta ao meio ambiente pela estabilidade química deste composto além de ser não volátil e não tóxico, mas em situações de anaerobiose como no fundo de rios pode ser convertido a sulfeto que apresenta maior toxicidade e aumenta a demanda química de oxigênio na região. E suas restrições legais são relacionadas a evitar ou minimizar lançamentos de ácidos (geralmente sulfúrico em situações industriais) a corpos receptores, além de prevenir possíveis desbalanceamentos do ciclo do enxofre natural (Hao *et al.*, 1996).

2.3. Processos químicos de tratamento de sulfato

Em geral, os processos químicos para tratamento de sulfato utilizam compostos alcalinos como por exemplo óxido de cálcio para precipitar na forma de gesso CaSO_4 . Este método geralmente é aplicado a soluções de altas concentrações de sulfato por apresentar baixo custo, e consegue eliminar grande quantidade deste composto, entretanto, sua aplicabilidade a soluções de baixa concentração de sulfato é inefetiva e traz necessidade do uso de tecnologias mais avançadas como a osmose reversa (Nancucheo e Johnson, 2014).

Osmose reversa e troca iônica são tecnologias que vem ganhando espaço mundialmente devido à sua efetividade na eliminação destes compostos, tem aplicabilidade para remoção de sulfato e podem ser aplicadas tanto para altas concentrações (8000 mg L^{-1}) quanto para concentrações menores do que 100 mg L^{-1} (Darbi *et al.*, 2003). Apesar de atualmente estas tecnologias apresentarem alto custo operacional, nos últimos anos o investimento mundial em pesquisas da área está reduzindo seu custo e em áreas com dificuldade de acesso a água, estes processos já são utilizados em escala industrial.

2.4. Efeito da presença de sulfato em reatores metanogênicos

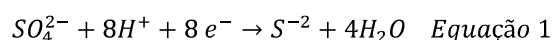
A presença de sulfeto em reatores metanogênicos traz vantagens como a possibilidade de remoção de metais por precipitação, como por exemplo FeS , entretanto, causam a diminuição da produção de metano e piora a qualidade do

biogás pela presença de sulfeto gerado pela redução deste composto. E o processo de redução de 1,5 g de sulfato requer a oxidação de 1,0 g de DQO, o que provoca um decréscimo de 0,233 m³ de metano produzido por cada quilograma de sulfato reduzido (Colleran *et al.*, 1995).

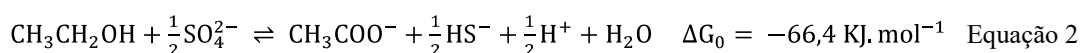
Foram estudados diversos tipos de reatores para eliminação de sulfato de resíduos industriais e águas residuárias como por exemplo Biorreatores descontínuos sequenciais - “Anaerobic sequential batch reactor” (Sarti *et al.*, 2009; Sarti e Zaiat, 2011; Moon *et al.*, 2015), Biorreatores de leito fluidizados - “Fluidized-bed reactor” (Nevatalo *et al.*, 2010), Biorreatores de manto de lodo granular expandido – “Upflow anaerobic sludge blancked reactor” (Silva *et al.*, 2002; Hubert *et al.*, 2003) e Biorreatores de tanque agitado – “Stirred tank bioreactor” (Gupta *et al.*, 1994), onde cada um deles apresenta suas características com relação a produção de biogás de acordo com seu layout e forma de imobilização, nestes estudos foram estudadas apenas a influência da redução de sulfato na produção de metano, e não a otimização da produção de sulfeto.

2.5. Redução de sulfato e formação de sulfeto

A presença de H₂S em águas residuárias é geralmente devida ao processo de redução anaeróbia de sulfato por micro-organismos, como descrito na Equação 1. Esta reação ocorre na ausência de oxigênio, nitrato ou outro acceptor final de elétrons mais favorável termodinamicamente do que o sulfato.

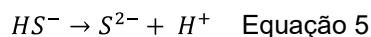
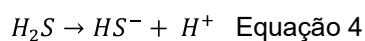


Este é causado pela transformação ou consumo de substratos orgânicos como por exemplo lactato, piruvato e H₂, ácidos graxos (Madigan e Martinko, 2006; Nevatalo *et al.*, 2010), glicerina, etanol e acetato (Florentino *et al.*, 2015; Nancucheo *et al.*, 2016), conforme as Equações 2 e 3 abaixo para etanol e acetato respectivamente.



Em solução, o sulfeto é um ácido fraco e se dissocia como descrito nas

Equações 4 e 5, e sua formação em bioprocessos depende de muitos fatores, como potencial de oxido-redução, pH, temperatura, tempo de residência e presença de inibidores.



Após formados, os compostos e derivados de sulfeto são agentes inibitórios dos micro-organismos acetogênicos, metanogênicos e até dos próprios redutores de sulfato, devido a sua alta reatividade, poder de corrosão e toxicidade (Sarti *et al.*, 2008).

2.6. Produção de sulfeto em biorreatores

Segundo o trabalho de Nevatalo *et al.*, (2010) que usou um reator de leito fluidizado, as condições que promoveram maior produção deste composto (73 mmol L⁻¹ d⁻¹) foram 10 horas de tempo de residência, etanol como doador de elétrons a um fornecimento de 60-80 mmol L⁻¹ dia⁻¹, e sulfato fornecido a 400 mmol L⁻¹ dia⁻¹, equivalente a uma concentração inicial de 1600 mg L⁻¹.

A relação DQO/sulfato ótima obtida no trabalho de Velasco *et al.*, (2008), que usou um Biorreator de manto de lodo granular expandido, foi de 1,5 a 2,5, produzindo 330-470 mg H₂S L⁻¹. Usando etanol como fonte de DQO em excesso (100-300 mg L⁻¹), o que provocou a conversão parcial deste composto a acetato. Neste trabalho, a concentração de sulfato inicial fornecida foi de 100-750 mg L⁻¹ sendo que o ótimo foi obtido fornecendo apenas 100 mg L⁻¹.

O uso de H₂ como doador de elétrons para o bioprocessos de redução de enxofre elementar e produção de H₂S também está descrito na literatura por Escobar *et al.*, (2007), que obteve máxima produção de 2,1 g H₂S L⁻¹ dia⁻¹ utilizando uma densidade de polpa de enxofre elementar de 4,7% em massa, pH igual a 7,0 e temperatura de 30°C.

Apesar de compostos de sulfeto terem alto custo devido a sua dificuldade de produção e alta instabilidade, poucos trabalhos são encontrados com este tema e poucas informações estão disponíveis quanto as condições ótimas de bioprodução, mostrando que este é um tema que necessita ser mais explorado.

2.7. Tratamentos químicos de sulfeto

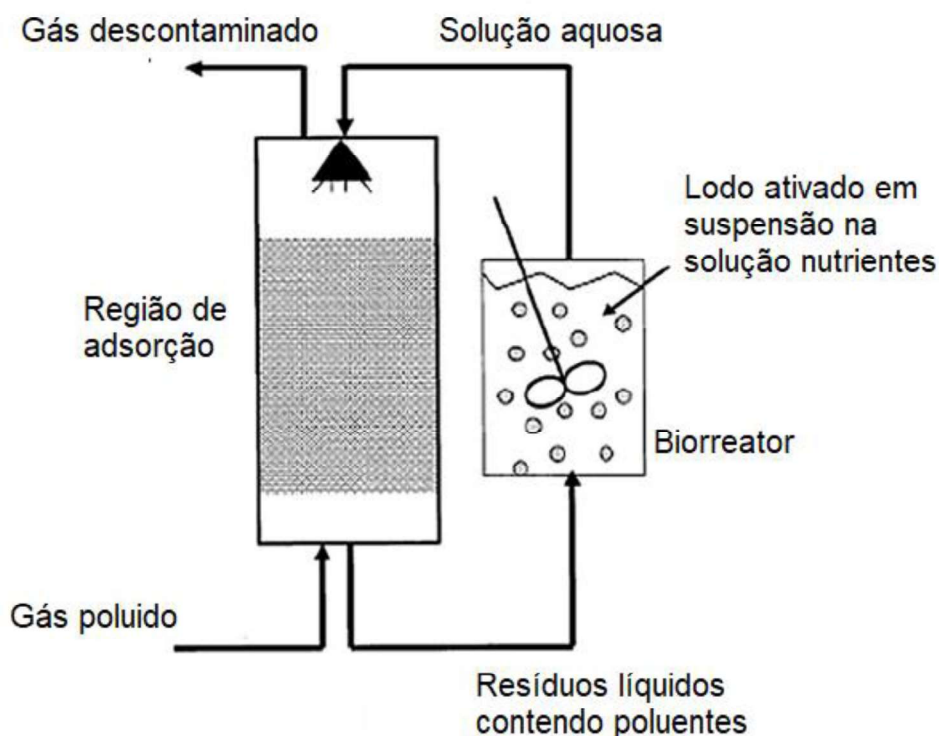
Existem diversos tratamentos para eliminação de H_2S sendo eles por adsorção, neutralização, quelação, precipitação e processos de membranas. Sendo que um dos processos de adsorção mais aplicados utiliza o carvão ativado, que devido a sua alta área superficial pode ser dopado com catalizadores responsáveis pela degradação e transformação do gás sulfídrico e após o processo são regenerados através de um tratamento térmico (Pourzolfaghar *et al.*, 2014). Outro processo de adsorção é o uso de lã de aço recoberta com ferrugem (Fe_2O_3) responsável pela reação com o gás sulfídrico formando sulfeto de ferro e água.

Dentre os processos aquosos, a neutralização é um dos mais utilizados, na qual o H_2S reage com uma solução alcalina (geralmente hidróxidos de sódio) para formação de seus respectivos sais. Entretanto, este processo gera uma grande quantidade de resíduos de difícil tratamento, como por exemplo sulfetos de sódio (Ryckebosch *et al.*, 2011; Nancucheo *et al.*, 2012). Outro processo aquoso é o uso de sais metálicos para precipitação de seus respectivos sulfetos metálicos, dentre eles os mais utilizados são zinco, ferro e cobre. Os processos de separação por membranas semipermeáveis a H_2S e CO_2 , permitem a passagem de metano, eliminando estes contaminantes presentes no biogás, purificando-o (Ryckebosch *et al.*, 2011).

2.8. Processos biológicos de eliminação de H_2S

Dentre todos os métodos biológicos de tratamento de H_2S , os principais são biolavadores, biofiltros e biofiltros percoladores, sendo que o primeiro é composto por duas subunidades, um biorreator onde ocorre o processo de degradação do contaminante e um lavador contendo um material suporte inerte no qual o gás contaminado passa em contracorrente com a fase líquida, é adsorvido e levado ao biorreator Figura 2. Por se tratar de um biorreator separado, este processo apresenta algumas vantagens como facilidade de controle de parâmetros como pH, concentração de sais e temperatura, e baixa perda de carga no sistema, entretanto, não podem ser usados para tratamento de compostos não solúveis em água e apresenta a desvantagem de grande geração de lodo e resíduos líquidos.

Figura 2: Esquema representativo de um biolavador



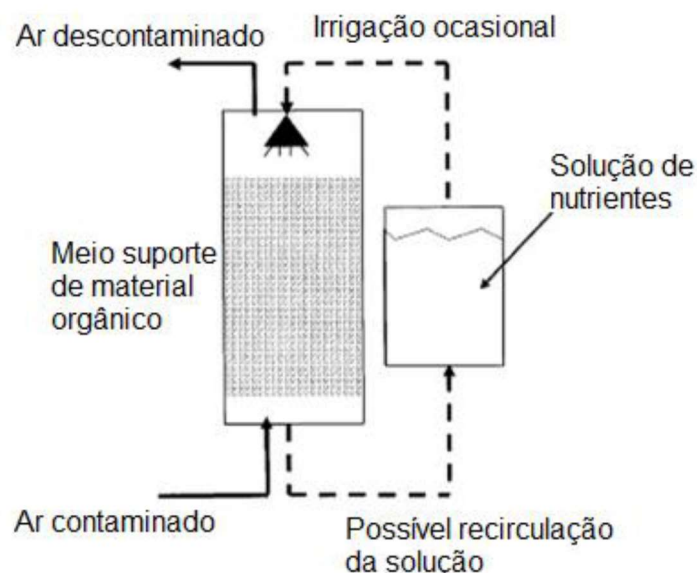
Fonte: Adaptado de (Mudliar *et al.*, 2010)

Os biofiltros consistem em recipientes preenchidos por um material suporte orgânico poroso, fonte de nutrientes para micro-organismos que se imobilizam sobre este material, e a remoção do gás contaminado se dá pela passagem deste gás pelo biofiltro, que possui também um fornecimento de solução responsável pela umidificação do material suporte. O teor de umidade é um dos principais fatores de controle deste reator, que além de fornecer condições aos micro-organismos se desenvolverem, evita o ressecamento do material suporte, e em situações nas quais o gás tratado apresenta baixa umidade este processo pode ser dificultado (Mudliar *et al.*, 2010).

Este biorreator (Figura 3) apresenta vantagens como baixo custo inicial e operacional, quando comparado com processos químicos e de membrana, e pode tratar grandes quantidades de volumes de compostos gasosos, além da possibilidade de ser empregado no tratamento de compostos orgânicos e remoção de odores industriais. Com relação aos biolavadores, os biofiltros também tem a vantagem de não produzir resíduos secundários e por esses motivos há registros de seu emprego em mais de 600 indústrias (Solcia *et al.*, 2014). Entretanto ele possui a desvantagem de deterioração do material suporte,

ressecamento do sistema e criação de caminhos preferenciais, entupimento do material suporte pela formação de material particulado e dificuldade de controle de parâmetros como pH e umidade (Mudliar *et al.*, 2010).

Figura 3: Representação esquemática de um biofiltro.

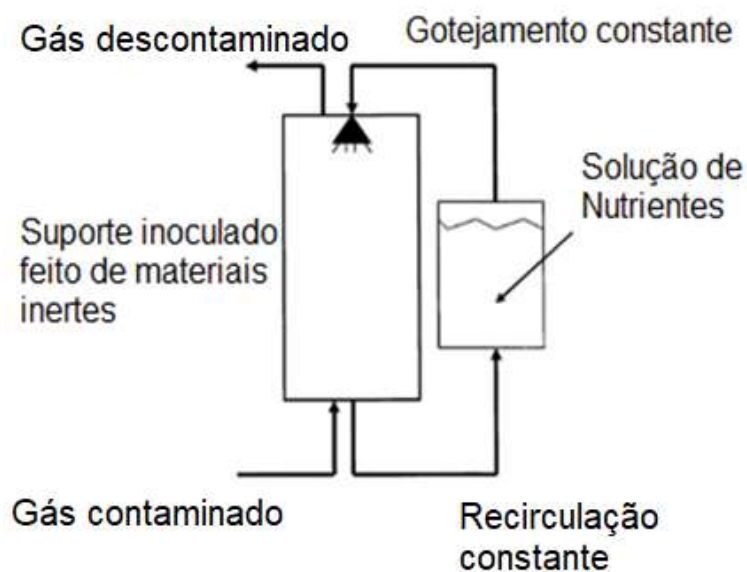


Fonte: Adaptado de (Mudliar *et al.*, 2010)

Os biofiltros percoladores (Figura 4), que consistem em um dos temas do presente trabalho, é uma variação do biofiltro tradicional, na qual o material suporte utilizado é inerte e não orgânico, responsável apenas pela adesão dos micro-organismos na forma de biofilme, responsável pela eliminação dos nutrientes. Outra diferença deste reator é a irrigação constante, pois a solução recirculada é a fonte de nutrientes dos micro-organismos.

Alguns exemplos de materiais suportes utilizados em biofiltros percoladores são anéis Pall (Fernandez *et al.*, 2013; Montebello *et al.*, 2014; Almenglo *et al.*, 2016), espuma de poro aberto de poliuretano (Ramirez *et al.*, 2011; Fernandez *et al.*, 2014), anéis de polietileno de alta densidade (Zieminski e Kopycki, 2016), tiras de PVC, PET e Teflon® (Hidalgo *et al.*, 2017) que apresentam diferentes características como área superficial, densidade, porosidade, resistência mecânica e por isso são utilizados também em diferentes bioprocessos de acordo com a necessidade.

Figura 4: Esquema representativo de um biofiltro percolador.



Fonte: Adaptado de (Mudliar *et al.*, 2010).

Este biorreator tem as vantagens de fácil controle dos parâmetros como pH, temperatura, concentração de nutrientes, pode ser aplicado tanto para baixas quanto para altas concentrações de H_2S , apresenta baixo custo inicial e operacional e baixa perda de carga. Mas apresenta as desvantagens de acúmulo de biomassa no material suporte e geração de resíduos secundários.

3. Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo o estudo de bioprocessos relacionados ao ciclo do enxofre, sendo eles redução de sulfato e oxidação de sulfeto, através dos seguintes objetivos específicos:

3.1. Objetivos específicos

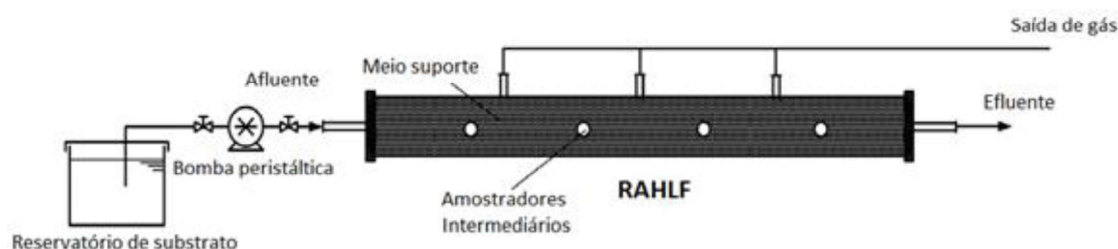
- Verificar a influência das variáveis concentração inicial de sulfato, tempo de residência e relação DQO/sulfato no processo de redução de sulfato;
- Utilizar o planejamento fatorial central composto como ferramenta para observar a influência e interação entre as variáveis estudadas;
- Otimizar a produção de sulfeto e eliminação de sulfato em biorreatores contínuos de leito fixo;
- Estudar a influência das variáveis temperatura, tempo de residência e carga de sulfeto fornecida ao biofiltro percolador visando a descontaminação de H_2S ;

4. Materiais e métodos

4.1. Descrição e operação do Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF)

O biorreator em escala de laboratório (Figura 5) foi confeccionado em PVC com 150 cm de comprimento e 10 cm de diâmetro (interno) perfazendo uma relação comprimento por diâmetro (L/D) de aproximadamente 15. Possui volume total de 12 L, sendo 6,2 L de volume útil reacional e 1,0 L (8% do total) de headspace destinados à separação do gás gerado. Amostradores intermediários ao longo do comprimento do reator, espaçados de 30 cm, estão alocados em posições correspondentes ao L/D de 3, 6, 9 e 12 para coleta de amostras, além da entrada (L/D=0) e saída (L/D=15). O reator foi preenchido com peças irregulares de carvão mineral (30 a 40 mm de diâmetro, lavado 3 vezes com água para eliminação de sais solúveis) fornecido pela carbonífera Cambuí (Figueira – PR) para formação do leito fixo, apresentando uma porosidade de leito de 51,6%, determinados através da medida do volume de água no reator antes e depois de preenchido com material suporte.

Figura 5: Esquema experimental do RAHLF



Fonte: Autor.

A inoculação do RAHLF foi realizada utilizando o lodo do reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Bed Reactor) da Companhia Matonense de Saneamento (CMS), que ficou em contato com o carvão mineral por 48 horas. Depois o carvão foi peneirado para remoção do excesso de lodo e introduzido na unidade para início da operação. A seguir o reator foi alimentado com uma mistura de etanol combustível (fonte de elétrons e carbono para o crescimento de micro-organismos) e água residuária rica em sulfato (proveniente de uma indústria química de sulfonação de óleos vegetais, contendo $185,7 \text{ g SO}_4^{2-} \text{ L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,8$) diluídos para obter concentração em cada experimento, e injetados por

uma bomba peristáltica. A concentração de sulfato fornecido ao reator no início foi de 250 mg L^{-1} e sempre que a concentração deste composto no efluente foi inferior a 50 mg L^{-1} , o fornecimento foi aumentado para 400, 500, 1000, 1500 e 2000 mg L^{-1} para desenvolvimento do biofilme no material suporte, este processo durou 78 dias, conforme demonstrado na Tabela 1, mantendo o tempo de residência em 9 horas durante este período.

Tabela 1: Concentração de sulfato inicial fornecida ao RAHLF no período de imobilização da biomassa, relação DQO/sulfato mantida igual a 2,0.

Tempo (dias)	Concentração de SO_4^{2-} (mgL^{-1})
0-11	250
12-21	400
22-37	500
38-53	1000
55-66	2000
67-78	1500

Fonte: autor.

Após o período de imobilização, deu-se início aos experimentos do desenho fatorial em dois níveis (2^k), para uma triagem inicial da influência das variáveis tempo de residência, concentração de sulfato inicial no efluente e relação DQO/sulfato fornecida tanto para a produção de sulfeto, quanto para a eliminação de sulfato. Os parâmetros estudados estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Níveis das variáveis utilizadas no planejamento fatorial em dois níveis.

Variáveis	-1	0	+1
Tempo detenção hidráulica (h)	12	26	40
Sulfato Inicial (mg L^{-1})	1000	2000	3000
DQO/sulfato	1,0	2,0	3,0

Fonte: autor.

O número de experimentos em um planejamento fatorial em dois níveis é dado por $N = 2^k + C$, onde “k” é o número de variáveis e “C” é o número de réplicas do ponto central. Os níveis são “-1” e “+1” para cada variável estudada, e no caso utilizado também foram realizadas 3 réplicas do ponto central, nível

adicional “0” como mostra a Tabela 2. Esta metodologia permite obter superfícies de respostas em função das variáveis estudadas e analisar a interação entre as elas. Os experimentos foram realizados seguindo uma metodologia de amostragem que consistiu em fornecer as condições (Tabela 3) por 3 tempos de residência para estabilização da condição e realizar amostragens nos dias 4, 5 e 6, obtendo a triplicata dos resultados em cada experimento.

Tabela 3: Descrição das variáveis estudadas em cada experimento.

Experimento	Tempo Residência	Sulfato Inicial	DQO/sulfato
1	-1	+1	+1
2	+1	-1	+1
3	0	0	0
4	-1	-1	-1
5	+1	-1	-1
6	0	0	0
7	-1	-1	+1
8	-1	+1	-1
9	+1	+1	-1
10	+1	+1	+1
11	0	0	0

Fonte: autor.

Após 66 dias de experimento os resultados foram tratados para identificação do efeito das variáveis para as respostas produção de sulfeto e eliminação de sulfato, com o objetivo de realizar um planejamento experimental central composto, com maior refinamento, durante o período de intercâmbio realizado pelo aluno em Cádiz-Espanha.

4.2. Descrição e crescimento do inóculo para reatores A e B

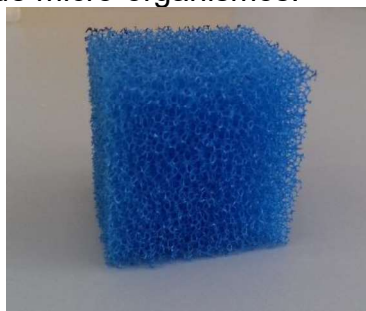
O inóculo utilizado foi proveniente da primeira etapa dos estudos da eliminação de sulfato e produção de sulfeto, utilizando o RAHLF e consistiu de um consorcio de micro-organismos redutores de sulfato e acetogênicos imobilizados em carvão mineral, cuja caracterização genômica foi solicitada para análise no exterior.

Para realizar o crescimento do inóculo e multiplicação dos micro-organismos, três grânulos de carvão mineral foram colocados em uma coluna de 6 cm de diâmetro interno e 40 cm de comprimento, preenchida com espuma de poro aberto de poliuretano e 900 mL de meio de cultivo contendo 146 mg L^{-1} $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 433 mg L^{-1} Na_2SO_4 , $1,4 \text{ mL L}^{-1}$ etanol, 184 mg L^{-1} K_2HPO_4 semelhante ao descrito por Galavoti (2003), recirculando em um sistema fechado por uma bomba peristáltica Maxterflex L/S a uma vazão de 2 L h^{-1} . Após 20 dias de recirculação (tempo utilizado para confecção dos reatores A e B), tanto o líquido enriquecido, quanto a espuma de poliuretano foram utilizadas como inóculo dos dois reatores usados.

4.3. Descrição dos reatores de leito fixo e fluxo ascendente

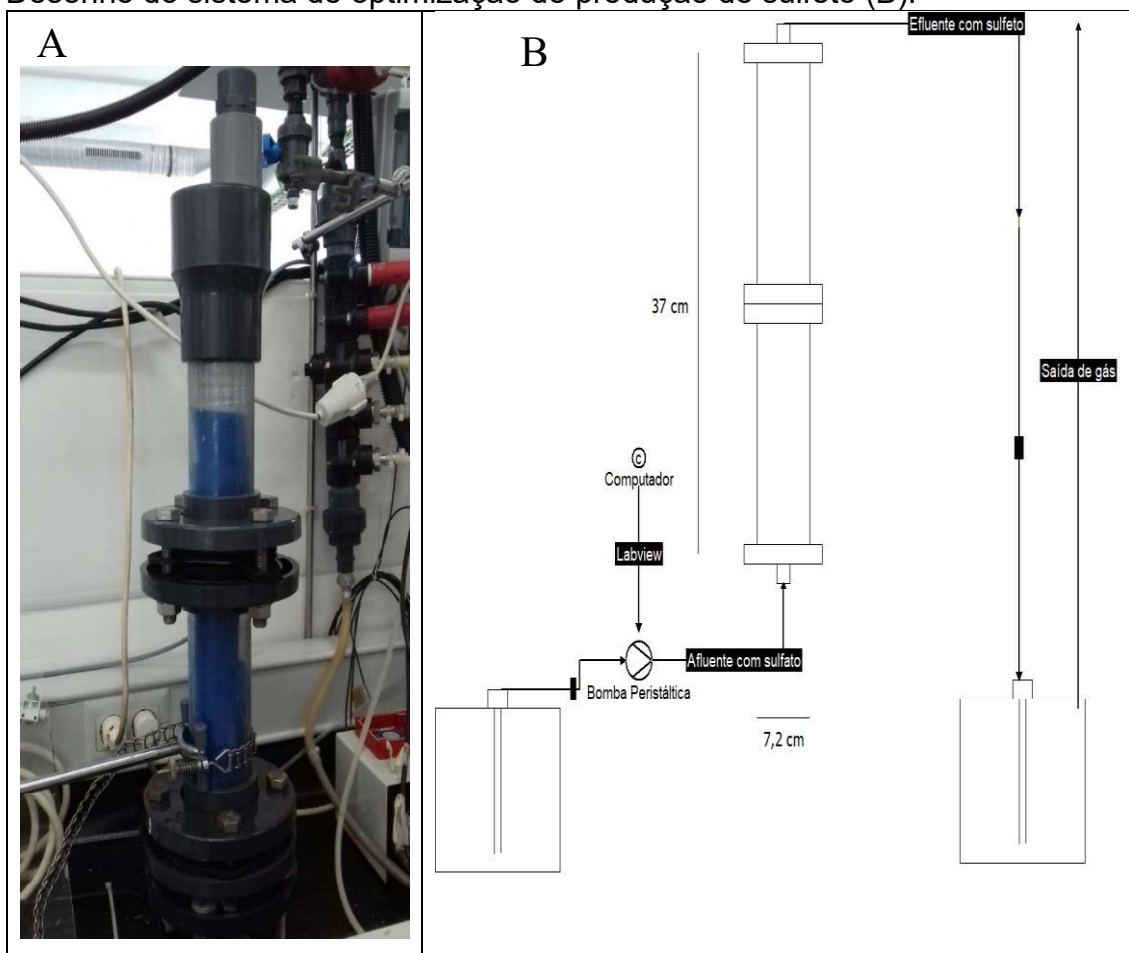
O primeiro reator (Figura 7A) confeccionado foi um Reator de Leito Fixo e Fluxo Ascendente (nomeado nesta dissertação como “Reator A”) e consiste de um tubo de PVC transparente com 37 cm de comprimento útil e 7,2 cm de diâmetro interno, perfazendo um volume útil de 1,52 L, preenchidos com 23,0 g de espuma de poro aberto de poliuretano (Figura 6) e porosidade de leito de 96,7% em volume, determinados através da medida do volume de água no reator antes e depois de preenchido com material suporte. Na metade do seu comprimento útil foi feita uma abertura para eventuais coletas de amostras de material suporte. O fornecimento de afluente (de composição variável em cada experimento, como descrito nos tópicos 4.2.3 e 4.2.4) foi realizado por uma bomba peristáltica Masterflex® L/S Economy Fixed-Speed Drives com cabeçote Masterflex® L/S Easy-Load Head for High-Performance Tubing, ATEX Zone com tubo de diâmetro interno de 15 mm. Este reator foi utilizado para estudo da otimização da produção de sulfeto.

Figura 6: Cubo de espuma de poro aberto de poliuretano usada como material suporte para crescimento de micro-organismos.



Fonte: Autor.

Figura 7: Imagem do Reator A para otimização da produção de sulfeto (A) e Desenho do sistema de otimização de produção de sulfeto (B).



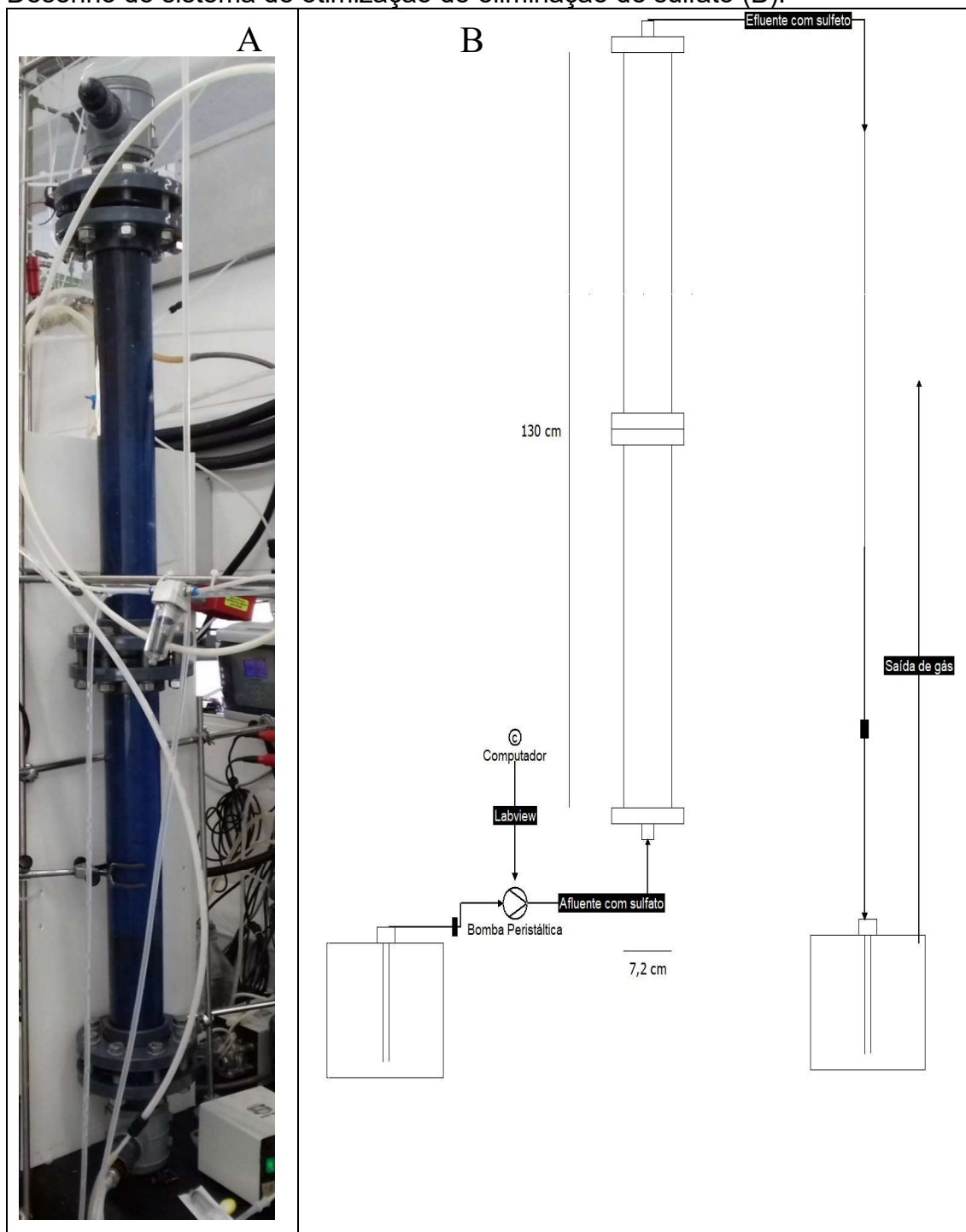
Fonte: Autor.

O segundo reator (Figura 8) confeccionado (Reator B) também é um Reator de Leito Fixo e Fluxo ascendente, feito com PVC transparente e possui comprimento útil de 130 cm e diâmetro interno de 7,2 cm, perfazendo um volume

útil de 7,6 L preenchidos com 128,7 g de espuma de poro aberto de poliuretano, com porosidade de leito de 96,6% em volume. Assim como o Reator A, este também possui uma abertura na metade do comprimento útil para coleta de material suporte e manutenção caso necessário. O fornecimento de afluente foi feito utilizando uma bomba peristáltica Masterflex® L/S Economy Fixed-Speed Drives com cabeçote Masterflex® L/S Easy-Load Head for High-Performance Tubing, ATEX Zone com tubo de diâmetro interno de 16 mm.

O reator A apresentou volume útil 5 vezes menor do que reator B devido à aplicação de cada um, onde o primeiro foi otimizado para a produção de sulfeto, com menor tempo de residência, gerando proporcionalmente maior quantidade de efluente contendo sulfeto que necessita tratamento posterior, por esse motivo foi menor do que o reator B, que foi destinado a eliminação de sulfato, com maior tempo de residência e gera proporcionalmente menos volume de efluente contendo sulfeto.

Figura 8: Imagem do reator B para otimização da eliminação de sulfato (A) e Desenho do sistema de otimização de eliminação de sulfato (B).



Fonte: Autor.

A velocidade de rotação das bombas peristálticas responsáveis pela alimentação dos dois reatores foi controlada pelo Software LabView® 2017, como pode ser observado nas Figuras 7B e 8B.

4.4. Operação dos Reatores A e B

Depois do crescimento da biomassa rica em micro-organismos sulfato redutoras de sulfato, a espuma de poro aberto de poliuretano foi utilizada como inóculo para os reatores A e B, fornecendo um afluente contendo $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ SO}_4^{2-}$, $2000 \text{ mg L}^{-1} \text{ DQO}$, $200 \text{ mg L}^{-1} \text{ NH}_4^+$ e $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}$ em um tempo de residência de 24 horas por um período de 30 dias para crescimento e estabilização do biofilme do reator A (determinado pela estabilização do consumo de substrato) e 37 dias para estabilização do reator B. Após esse período de imobilização, deu-se início ao estudo da otimização das variáveis tempo de residência, concentração de sulfato inicial, e relação DQO/Sulfato para produção de sulfeto e eliminação de sulfato.

4.4.1. Variáveis estudadas e metodologia de análise dos dados dos reatores A e B

O estudo das variáveis para as duas respostas analisadas (produção de sulfeto diária e eliminação de sulfato) foi baseado nos resultados obtidos no planejamento fatorial utilizando o RAHLF, no qual foi possível direcionar o alcance de cada uma das variáveis para um estudo mais detalhado na região ótima de cada uma das respostas para se obter maiores informações da influência de cada parâmetro. Levando em consideração que a produção ótima de sulfeto ocorre em menores tempos de residência do que a eliminação de sulfato, foram propostos dois reatores (A e B), nos quais esta variável foi estudada dentro de sua faixa ótima para cada resposta em cada reator, sendo o reator A com menores tempos de residência (Tabela 4) e o reator B com tempos de residência mais elevados (Tabela 5).

Tabela 4: Valores experimentais dos parâmetros estudados para otimização da produção de sulfeto no Reator A.

Parâmetros	-Alpha	-1	0	+1	+Alpha
Tempo de residencia (horas)	5,25	9	14,5	20	23,7
Sulfato Inicial (mg L^{-1})	320	1000	2000	3000	3680
DQO/ SO_4^{2-} (Relação)	0,3	1	2	3	3,7

Fonte: Autor.

A razão DQO/SO₄²⁻ para o reator B (visando eliminação de sulfato) foi mantida em 2,0 pois foi o valor que apresentou melhores resultados no estudo prévio realizado no RAHLF, além de não ter uma influência muito grande nesta para esta resposta, quando comparado com os outros dois parâmetros, tempo de residência e concentração de sulfato inicial, nos quais foram otimizados neste estudo, conforme mostra a Tabela 5.

Tabela 5: Valores experimentais dos parâmetros estudados para otimização da eliminação de sulfato no Reator B.

Parâmetros	-Alpha	-1	0	+1	+Alpha
Tempo de residência (horas)	8,2	15	25	35	41,8
Sulfato Inicial (mg L ⁻¹)	500	1000	2250	3500	4000

Fonte: Autor.

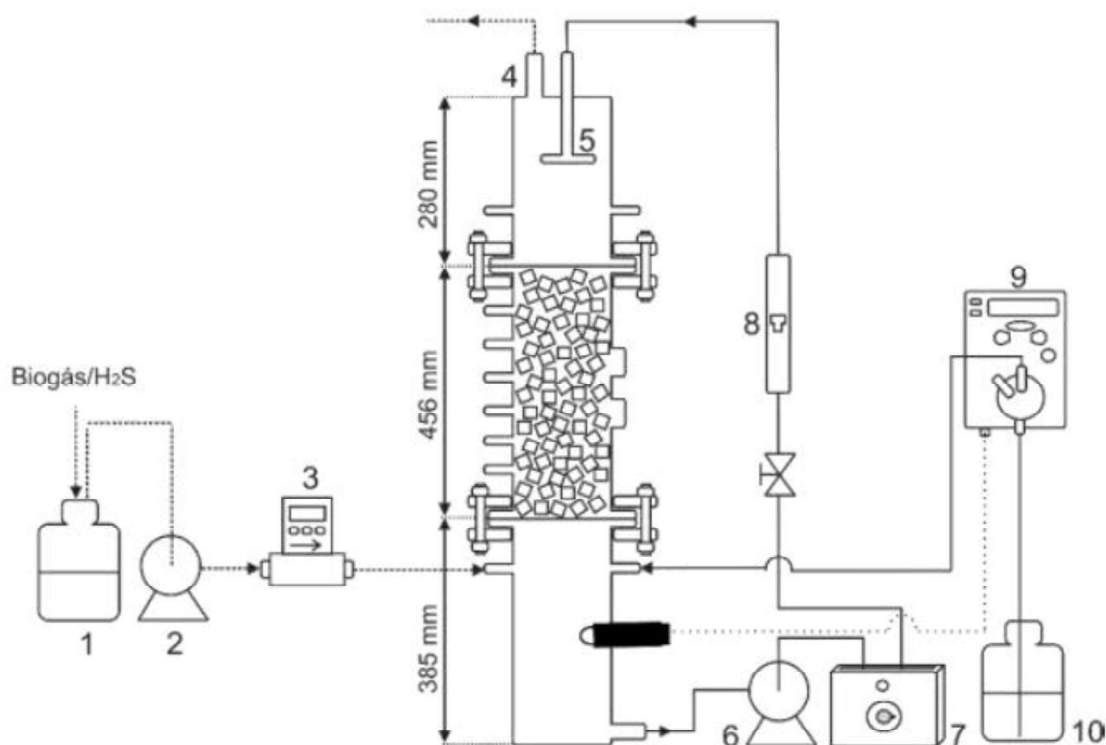
Para a otimização do reator A foram realizados 8 pontos do desenho fatorial, 6 pontos axiais e 3 réplicas do ponto central, totalizando 17 experimentos. Para o reator B foram realizados 4 pontos do desenho fatorial, 4 pontos axiais e 3 réplicas do ponto central, totalizando 11 experimentos. A metodologia de amostragem deste estudo consistiu em fornecer as condições de cada experimento por três tempos de residência e coletar amostras nos próximos três dias consecutivos, realizando assim a triplicata de cada experimento. Esta etapa do trabalho durou 71 dias para o reator A e 48 dias para o reator B.

4.5. Descrição do Biofiltro Percolador em escala de bancada

O biofiltro percolador utilizado (Figura 9) consiste em uma coluna de vidro com diâmetro interno de 93 mm, altura útil de 456 mm e volume útil de 3 L, preenchido com tiras de PVC como meio suporte para imobilização dos micro-organismos. Na extremidade superior do biofiltro há um difusor para a distribuição homogênea do meio de cultivo recirculado. A fonte de sulfeto fornecida foi o biogás gerado no reator UASB da estação de tratamentos de esgotos de Matão-SP, que foi alimentada pela entrada inferior do biofiltro após passar por um rotâmetro de gás e em contracorrente com o meio de cultivo. O controle de pH foi realizado utilizando uma bomba dosadora (Etraton DLXB pH-ORP) com solução de NaOH 4 mol L⁻¹ a 10% de intensidade de pulso e Setpoint

em 7,00, que permitiu que os valores reais de pH no biofiltro estivessem entre 6,95 e 7,05.

Figura 9: Esquema experimental do biofiltro percolador. 1. Reservatório de água; 2. Bomba de vácuo; 3. Rotâmetro de biogás/H₂S; 4. Biofiltro percolador; 5. Difusor; 6. Bomba de recirculação de nutrientes; 7. Banho térmico; 8. Rotâmetro de circulação de nutriente



Fonte: (Guerrero e Bevilaqua, 2015)

4.5.1. Descrição do material suporte

As tiras utilizadas como material suporte são provenientes de tubos hidráulicos de PVC para construção e por esse motivo apresentam custo muito inferior do que os suportes geralmente utilizados, além de serem facilmente encontrados, o que incentiva a reutilização de materiais que seriam descartados.

O material apresenta $0,432 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ de área superficial e dimensões aproximadas de 2,20 mm de largura e 0,223 mm de espessura, geradas pelo processo de torneamento mecânico. A densidade apresentada por este material foi de $1,4 \text{ g cm}^{-3}$, alta quando comparada a espuma de poro aberto de poliuretano que geralmente é utilizada em trabalhos relacionados a biofiltros percoladores

na literatura, que apresenta $0,02 \text{ g cm}^{-3}$.

4.5.2. Operação do Biofiltro Percolador em escala de bancada

A primeira etapa da operação foi o desenvolvimento e adaptação do biofilme contendo micro-organismos oxidantes de sulfetos no material suporte utilizado. Diferentemente dos outros trabalhos publicados em nosso grupo de pesquisa (Guerrero & Bevilaqua, 2015; Solcia et al., 2014) que utilizaram tiosulfato como fonte de energia na etapa de imobilização, desta vez foi utilizado diretamente biogás ($0,5 \text{ L/min}$, tempo de residência = $4,8 \text{ minutos}$) da estação real de tratamento de efluentes, visando uma redução do uso de reagentes químicos, que reduziria o custo desta etapa ao ampliar para a escala piloto.

O desenvolvimento do biofilme até sua estabilização, determinada pelo momento em que se tornou constante a capacidade de eliminação de sulfeto de hidrogênio durou 43 dias e foi possível observar visualmente a adesão da biomassa microbiana no material suporte (Figura 10). Foi realizada uma troca de meio de cultivo no dia 28 pois o sistema apresentou queda no rendimento de eliminação de sulfeto, causado pelo acúmulo de enxofre elementar. A troca consistiu em remover todo líquido de recirculação e substituir por meio de cultivo DSMZ contendo 4 g de N-NO_3^- como acceptor final de elétrons, ao mesmo tempo em que foi cessado o fornecimento de biogás, para que todo enxofre elementar formado sobre o material suporte fosse consumido, pois ele impede a transferência de massa de gás, além de promover a perda de carga no sistema. O mesmo processo foi realizado no dia 56 de operação para eliminar o enxofre formado sobre o material suporte.

Figura 10: Biofiltro percolador em escala de bancada no 5º e 40º dia de operação.



Fonte: Autor.

Após a etapa de imobilização, foram estudadas as influências da carga fornecida de sulfeto, temperatura, e consumo deste substrato em diferentes pontos do biofiltro nos 68 dias de operação subsequentes (Tabela 6). Importante ressaltar que a temperatura foi estudada a partir das medidas realizadas em cada dia e comparadas com o rendimento de eliminação de sulfeto do biogás e também que por se tratar de uma estação real de tratamento de efluentes, as concentrações de H_2S no biogás variaram de 634 a 2555 ppmv com uma média de 1387 ppmv no período de operação, portanto, o estudo da carga de H_2S fornecida foi realizado utilizando três diferentes vazões de biogás:

- 43-70 dias: Fornecimento de biogás 0,5 L/min (tempo de residência = 4,8 min)
- 71-89 dias: Fornecimento de biogás 1,0 L/min (tempo de residência = 2,4 min)
- 90-111 dias: Fornecimento de biogás 1,5 L/min (tempo de residência = 1,6 min)

Tabela 6: tempo de residência e carga fornecida nos períodos de operação do Biofiltro Percolador em escala de bancada.

Tempo (dias)	tempo de residência (min)	Carga ($\text{gSm}^{-3}\text{h}^{-1}$)
0-43	4,8	9,6 a 24,6
43-70	4,8	11,1 a 22,8
71-89	2,4	34,1 a 46,7
90-111	1,6	51,6 a 85,5

Fonte: Autor.

4.6. Análises químicas

As análises de pH, sulfato, nitrato e nitrito foram realizadas de acordo com Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA et al., 2005). A quantificação de sulfetos totais em solução foi realizada utilizando o “Kit sulfeto 5” da HACH® que segue metodologia padronizada pelo Standart Methods (APHA et al., 2005).

A quantificação dos gases foi feita utilizando o sensor GasAlertMicro5 Series – BW Technologies que possui alcance de concentração de 0-500 ppmv (incrementos de 1 ppm) para H_2S , 0-5% em volume (incrementos de 0,05%) para CH_4 , 0-30% (incrementos de 0,1%) para O_2 e 0-50000 ppmv (incrementos de 50 ppmv) para CO_2 . Para concentrações de H_2S superiores a 500 ppmv foi utilizada a metodologia Tutweiler, que consiste em titular um volume conhecido de gás com solução de iodo utilizando amido como 2 g L^{-1} como indicador (Solcia, et al 2014).

Durante o período de experimentos na Universidade de Cádiz, as análises de sulfato foram realizadas utilizando um sistema de cromatografia iônica Metrohm, 930 Compact IC Flex, Suíça), equipado com detecção condutimétrica

e com coluna Metrosep A Supp 5-250/4,0. A separação dos diferentes íons foi realizada utilizando eluente de composição Na_2CO_3 (3,2 mM) e NaHCO_3 (1,0 mM) a um fluxo isocrático de 0,7 mL/min.

As análises de acetato e etanol foram realizadas utilizando HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) LaCHROM Elite® VWR-Hitachi equipado com coluna HPX-87H para ácidos orgânicos (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) e detectores de índice de refração (RI) e ultravioleta (UV). As condições de operação foram 5 mM H_2SO_4 em água Milli-Q para a fase móvel a 0,6 L/min e temperatura de 50°C. Os tempos de retenção foram comparados com seus respectivos padrões de etanol e acetato para quantificações.

5. Resultados e Discussão

5.1. Resultados Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo

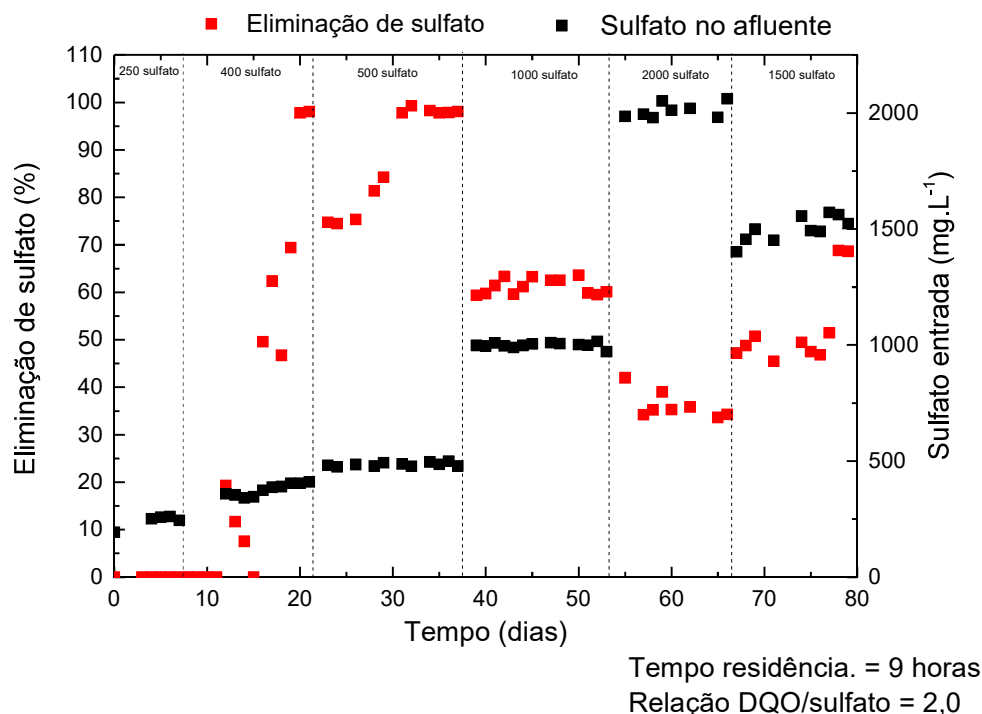
Durante o período de desenvolvimento do biofilme no carvão mineral usado como material suporte, foram determinadas as concentrações de sulfato no afluente do RAHLF (Figura 11), possibilitando determinar a porcentagem de eliminação deste íon pelo bioprocesso aplicado.

A concentração de sulfato no efluente do reator foi maior do que no afluente nos 11 primeiros dias de operação, fato esse causado pela alta quantidade deste íon presente no carvão mineral mesmo depois de lavado. Após o dia 11 foi possível identificar consumo de sulfato, que foi crescente até o dia de operação 30, no qual a porcentagem de eliminação alcançou valores próximos a 100%. Após a alta porcentagem de remoção de sulfato obtida, a concentração deste íon na solução fornecida foi aumentada para 1000 mg L⁻¹ e a porcentagem de eliminação foi reduzida para 60 % e assim permaneceu até o 53º dia de operação.

Com o aumento da concentração de sulfato de 1000 para 2000 mg L⁻¹ nos dias 55 a 66, a porcentagem de eliminação foi reduzida para 35%, mostrando que este aumento impactou fortemente o rendimento do reator, principalmente porque o tempo de residência em que o reator foi operado é considerado baixo para o processo de redução de sulfato. Por esse motivo a concentração de sulfato fornecida foi reduzida para 1500 mg L⁻¹ até o final da etapa de

desenvolvimento de biofilme, que foi determinado pela estabilização da porcentagem de eliminação deste composto.

Figura 11: Porcentagem de eliminação de sulfato e concentrações deste íon no afluente aplicado ao biorreator.

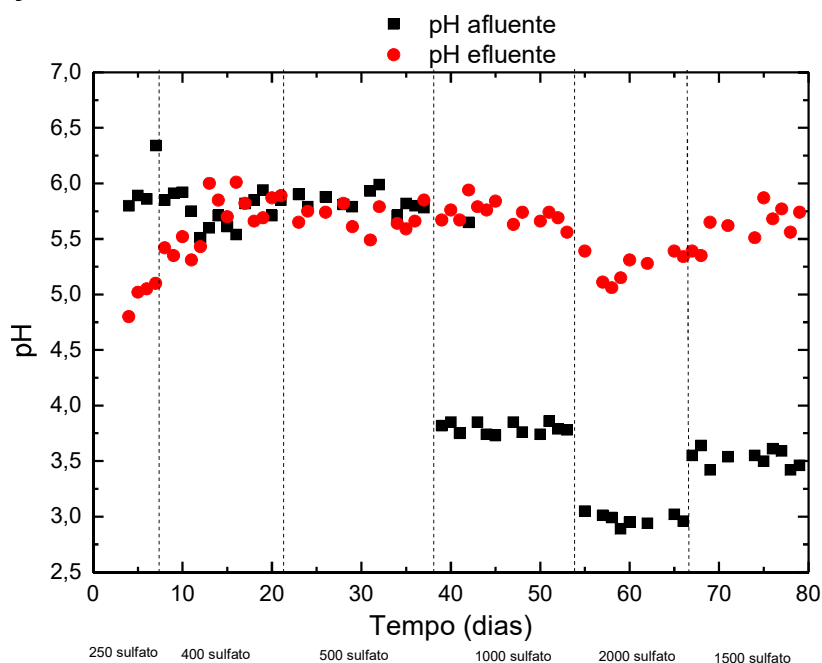


Fonte: Autor.

Os valores de pH do afluente fornecido ao RAHLF (Figura 12) mostram que com o aumento da concentração de sulfato, o afluente apresenta valores de pH menor, devido a acidez da solução utilizada como fonte de sulfato, proveniente do processo de sulfonação de óleos vegetais. Os baixos valores de pH do efluente fornecido com 1000, 1500 e 2000 mg L⁻¹ de sulfato também podem ser um dos motivos pela redução na porcentagem de eliminação, pois essa variação brusca de pH pode provocar uma inibição na atividade dos micro-organismos presentes no processo.

Mesmo fornecendo uma solução de pH próximo de 4,0, o biorreator foi capaz de manter estáveis os valores de pH no efluente. Entretanto, quando fornecida uma solução com 2000 mg L⁻¹ de sulfato e pH próximo a 3,0, se observa uma alteração nos valores de pH do efluente, indicando que pode ter ocorrido uma desestabilização no bioprocesso.

Figura 12: Valores de pH do afluente e efluente do biorreator durante o período de operação.



Fonte: Autor.

Após o período de imobilização, deu-se início ao estudo preliminar da influência das variáveis no RAHLF através do planejamento fatorial em dois níveis como descrito na Tabela 7 e as superfícies de respostas obtidas foram apresentadas abaixo.

Tabela 7: ANOVA respectiva a Porcentagem de remoção do RAHLF.

	Soma Quadrática	Valor F	Valor P
Modelo	16081	1592	< 0,001
A	1236	857	< 0,001
B	13083	9071	< 0,001
C	812	563	< 0,001
AB	353	245	< 0,001
AC	187	130	< 0,001
BC	236	163	< 0,001
Curvatura	3424	2374	< 0,001
Erro Puro	1,44		

Fonte: Autor.

A primeira resposta estudada foi a porcentagem de remoção de sulfato e segundo a ANOVA (Analysis of variance, Tabela 7), a equação que descreve esta resposta é:

$$P_{remoção} = +61,7 + 7,18(A) - 23,3(B) + 5,8(C) - 3,8(A)(B) + 2,80(A)(C) + 3,14(B)(C)$$

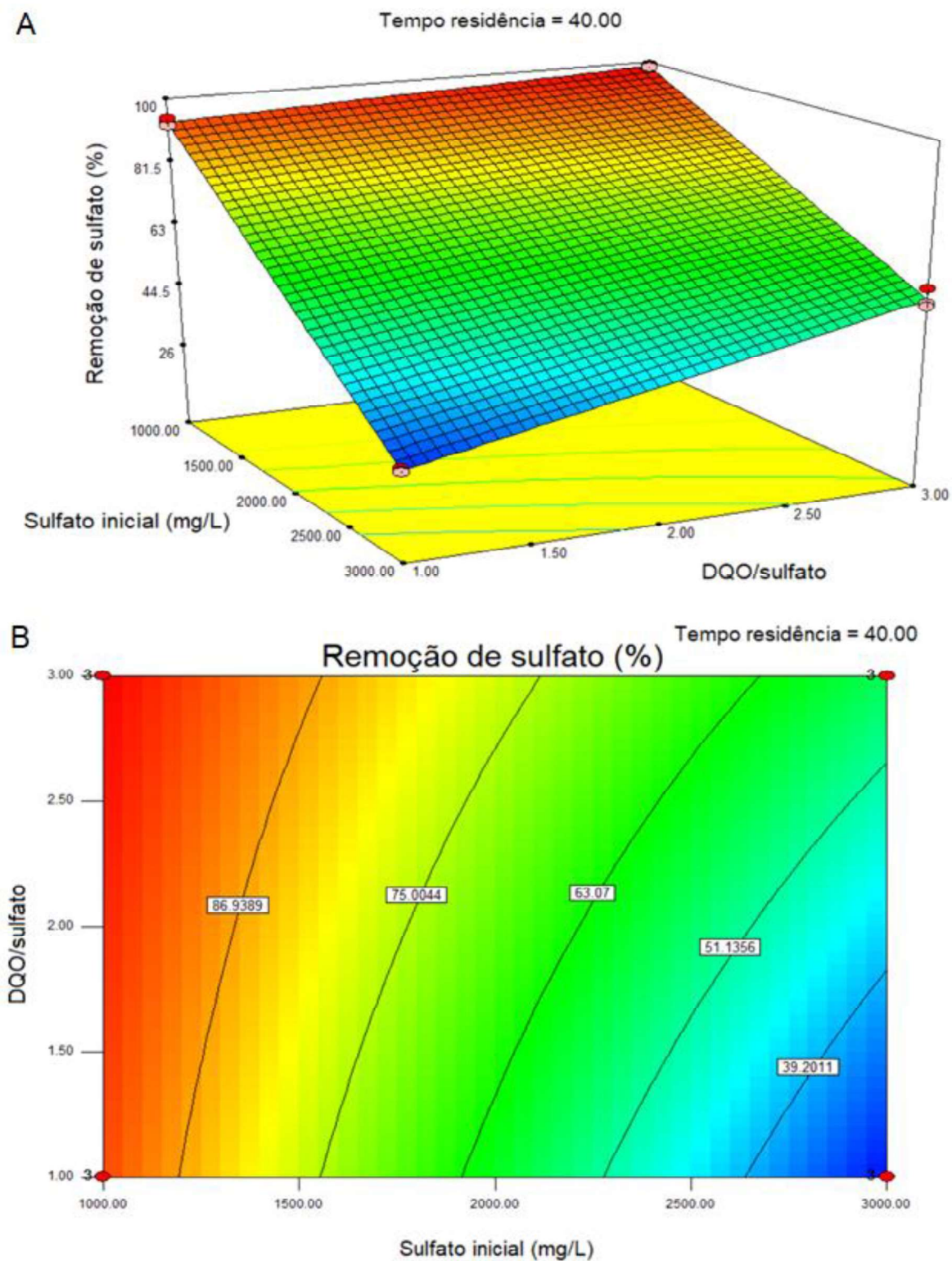
Onde (A) é o tempo de residência, (B) é a concentração de sulfato inicial e (C) é a relação DQO/sulfato. Portanto podemos ver que o fator que mais influencia a porcentagem de remoção é a concentração inicial de sulfato fornecida, que tem influência negativa, ou seja, quanto maior a concentração de sulfato inicial, menor a porcentagem de remoção, como pode ser observado nas superfícies de resposta abaixo.

Também é possível observar que para a concentração de sulfato inicial de 1000 mg L⁻¹, a relação DQO/sulfato não apresenta grande influência pois a remoção é sempre próxima a 100%. Entretanto quando a concentração de sulfato inicial é 3000 mg L⁻¹, a relação DQO/sulfato tem influência significativa, variando a porcentagem de remoção de 30% para 60 % nos valores de DQO/sulfato de 1,0 e 3,0 respectivamente.

O tempo de residência tem influência positiva na porcentagem de remoção, ou seja, quanto maior os valores de Tr, maior a porcentagem de remoção, como pode ser observado na Figura 13, tanto para baixos quanto para altos valores de concentração de sulfato inicial.

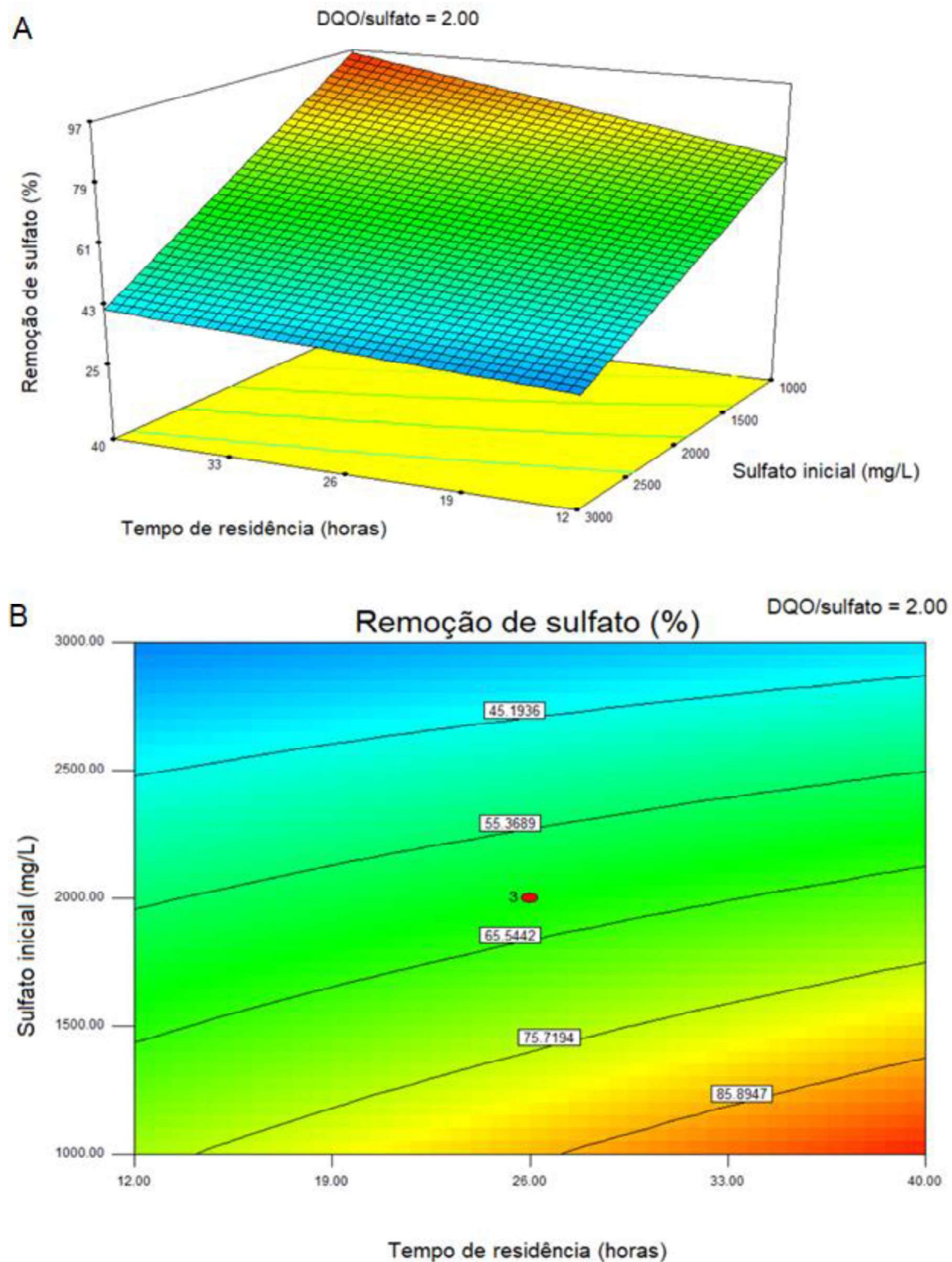
Nas condições de 1000 mg L⁻¹ de sulfato inicial, relação DQO/sulfato igual a 1,0 e tempo de residência de 40 horas foi obtido uma porcentagem de eliminação de 90%, significativamente maior do que o obtido (45%) por Archilha (2010) com um reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais, mostrando que a operação em modo contínuo tem grande potencial de aplicação para a eliminação de sulfato.

Figura 13: Superfície de resposta tridimensional (A) e de contorno (B) para porcentagem de remoção de sulfato em função das variáveis concentração de sulfato inicial e relação DQO/sulfato.



Fonte: Autor.

Figura 14: Superfícies de resposta 3D (A) e de contorno (B) para porcentagem de remoção de sulfato em função da concentração de sulfato inicial e tempo de residência.



Fonte: Autor.

A segunda resposta estudada foi a carga removida de sulfato e de acordo com a ANOVA (Tabela 8) obtida, a equação que descreve esta resposta é:

$$SO_4^{2-} \text{Elim.} = +760 - 350(A) + 123(B) + 83(C) - 68(A)(B) + 62,7(B)(C)$$

Tabela 8: ANOVA respectiva a Carga diária de sulfato removida do RAHLF.

	Soma Quadrática	Valor F	Valor P
Modelo	5,2.10 ⁵	997	< 0,001
A	2,9.10 ⁶	5568	< 0,001
B	3,7.10 ⁵	692	< 0,001
C	1,7.10 ⁵	316	< 0,001
AB	1,1.10 ⁵	214	< 0,001
BC	0,94.10 ⁵	178	< 0,001
Curvatura	3,3.10 ⁵	624	< 0,001
Erro Puro	95,1		

Fonte: Autor.

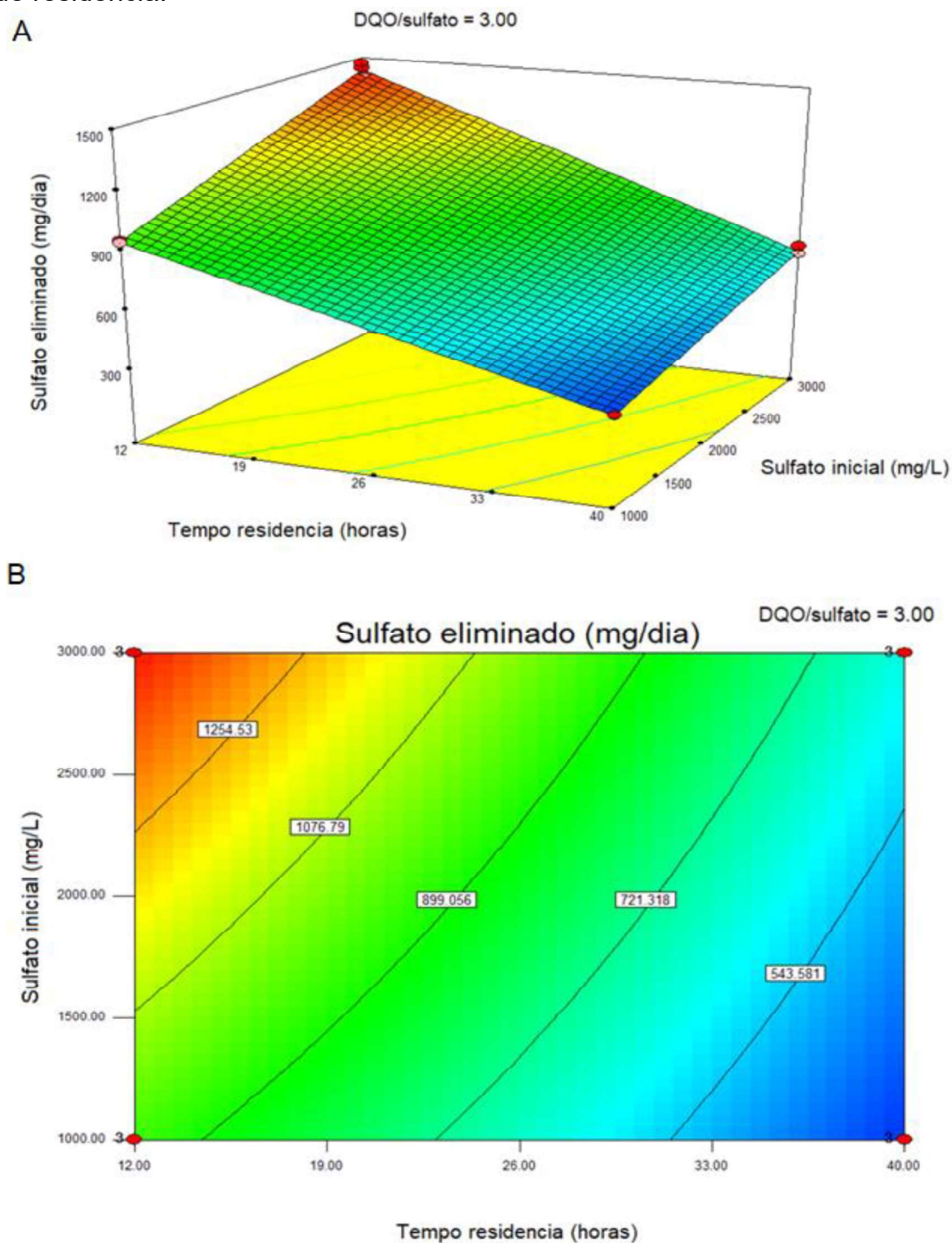
Foi observado que o fator que mais influenciou a carga de sulfato eliminada foi o tempo de residência, que teve influência negativa, ou seja, quanto maior o tempo de residência, menor a carga de sulfato eliminada. Entretanto, a concentração inicial de sulfato também tem grande influência sobre a resposta, mas de maneira positiva, ou seja, quanto maior a concentração de sulfato inicial, maior a quantidade diária de sulfato removida, como pode ser observado nas superfícies de resposta das Figuras 15 e 16.

A concentração de sulfato inicial tem menos influência em valores de tempo de residência maiores como mostra a Figura 15. No tempo de residência de 40 horas a carga de sulfato eliminada passou de 300 para 600 mg dia⁻¹ com o aumento da concentração de sulfato inicial de 1000 para 3000 mg L⁻¹, enquanto em tempo de residência de 12 horas a carga de sulfato eliminada passou de 900 para 1500 mg dia⁻¹ com a mesma variação do sulfato inicial.

As condições de operação que apresentam maior carga eliminação de sulfato diária são exatamente as opostas para o ótimo de porcentagem de eliminação deste íon. Isso se deve ao fato de que para ter uma maior

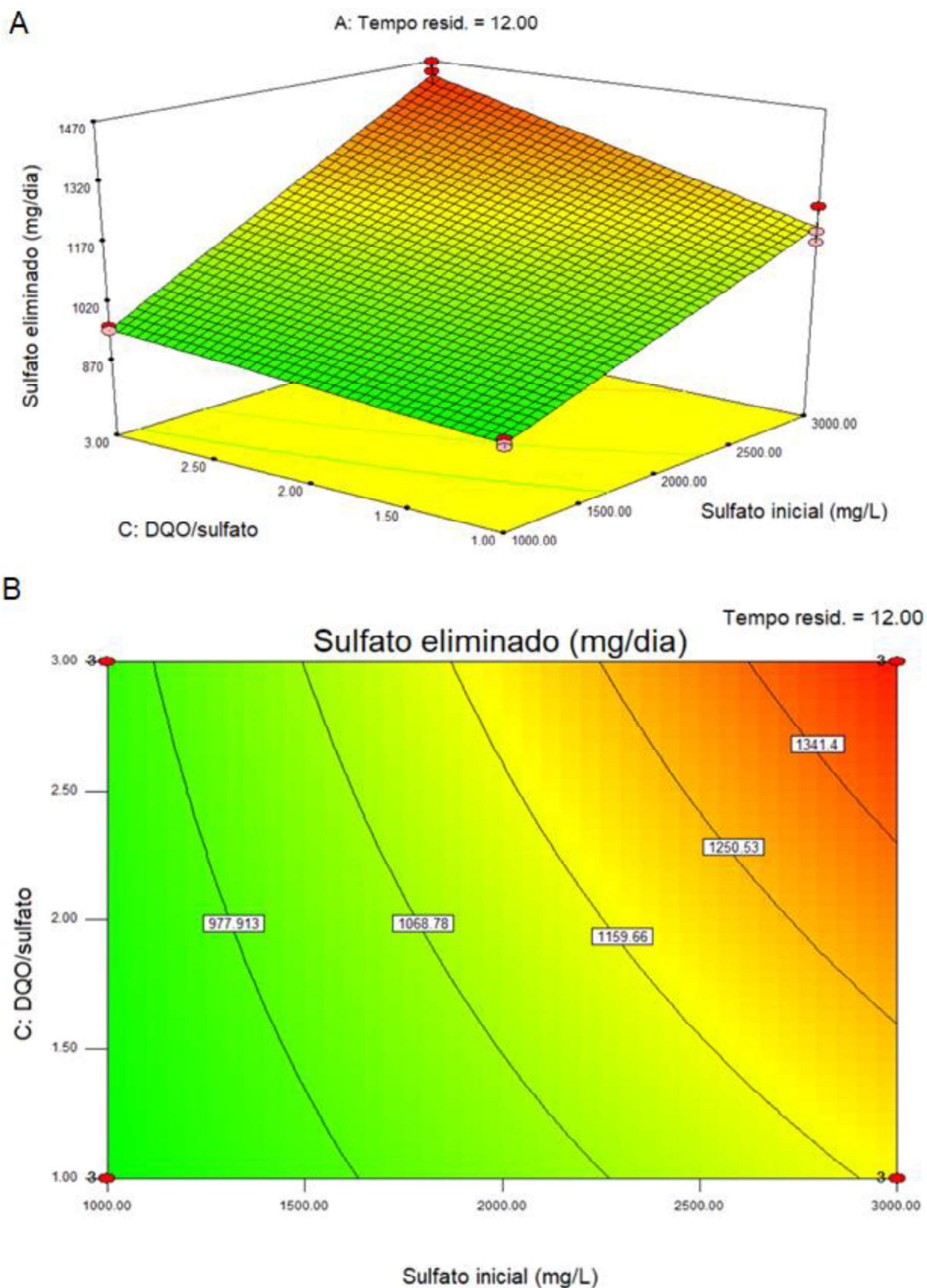
porcentagem de eliminação é necessário ter um maior tempo de residência e fornecer baixas quantidades deste íon, enquanto para remover uma maior quantidade, é necessário fornecer uma alta concentração e baixos valores de tempo de residência.

Figura 15: Superfícies de resposta 3D (A) e de contorno (B) para carga diária de sulfato removida em função das variáveis concentração de sulfato inicial e tempo de residência.



Fonte: Autor.

Figura 16: Superfícies de resposta 3D (A) e de contorno (B) para carga diária de sulfato removida em função das variáveis concentração de sulfato inicial e relação DQO/sulfato.



Fonte: Autor.

Também pode ser observado que a relação DQO/sulfato (Figura 16) tem maior influência na resposta em altos valores de concentração de sulfato inicial, como 3000 mg L⁻¹, variando de 1150 para 1450 mg dia⁻¹ com DQO/sulfato igual a 1,0 e 3,0 respectivamente, do que em baixas concentrações de sulfato inicial, como 1000 mg L⁻¹, onde quase não apresentou variação na carga removida, que ficou em torno de 950 mg dia⁻¹ para todos os valores de DQO/sulfato.

A terceira resposta estudada foi a carga de sulfeto diária produzida e de acordo com a ANOVA obtida, a equação que descreve esta resposta é:

$$S_{produzido}^{2-} = +1,78 - 0,57(A) - 0,40(B)(C) + 0,38(A)(B)(C)$$

Entretanto, a equação gerada pelo programa para esta resposta é considerada não hierárquica, pois os parâmetros de segunda ordem (B*C) e de terceira ordem (A*B*C) só poderiam ser significativos se os seus respectivos de primeira ordem também fossem. Por esse motivo esta equação e suas respectivas superfícies de resposta foram desconsideradas.

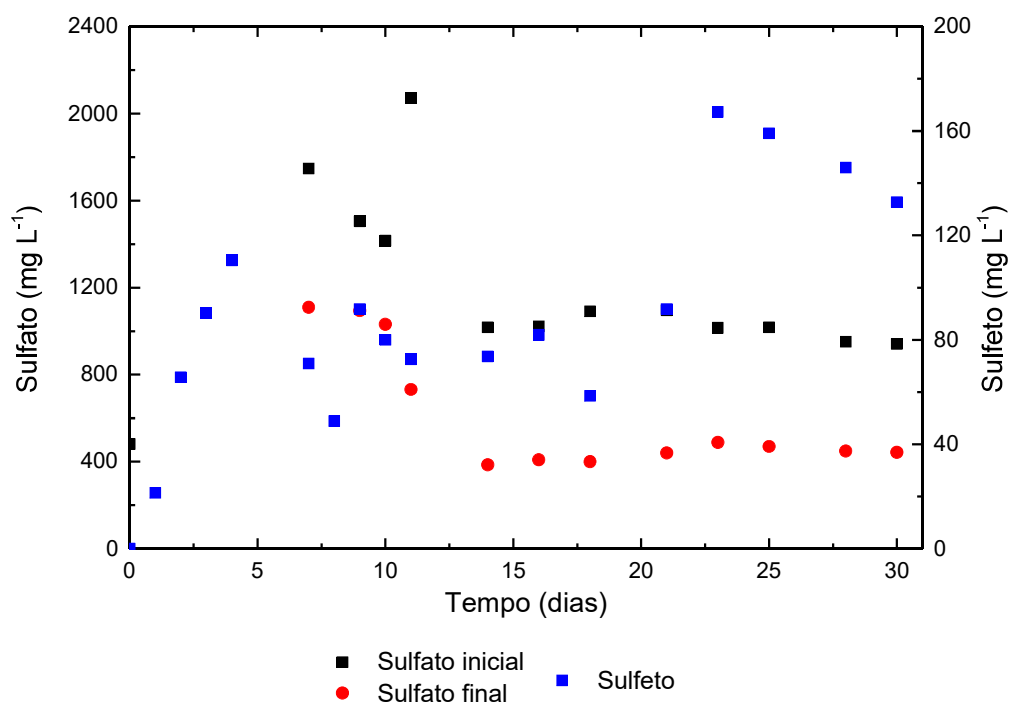
Por se tratar de um estudo prévio da influência de cada variável no processo estudado, a escolha dos intervalos das variáveis não foi feita para demonstrar o cume da superfície de resposta, indicando os valores ótimos de operação, por esse motivo, durante o período de intercâmbio na Universidad de Cádiz – SP, foram realizados mais uma série de experimentos com maior variação dos parâmetros, cujos resultados estão discutidos nos próximos tópicos.

5.2. Resultados dos reatores A e B

5.2.1. Reator A para otimização da produção de sulfeto

Nos primeiros cinco dias após a inoculação do reator A, a concentração de sulfeto em solução foi crescente devido à alta concentração de células (da ordem de 10⁷ células mL⁻¹ em solução) inoculadas (Figura 17), além de ser um inóculo rico em micro-organismos sulfato redutores, e após alguns dias fornecendo solução de nutrientes foi possível observar que a concentração de sulfeto em solução diminui até o dia 24, a partir do qual voltou a aumentar até a estabilização com a nova condição fornecida. Com relação a concentração de sulfato no efluente do reator, é possível observar que se estabilizou a partir do dia 15, em valores próximos a 400 mg L⁻¹.

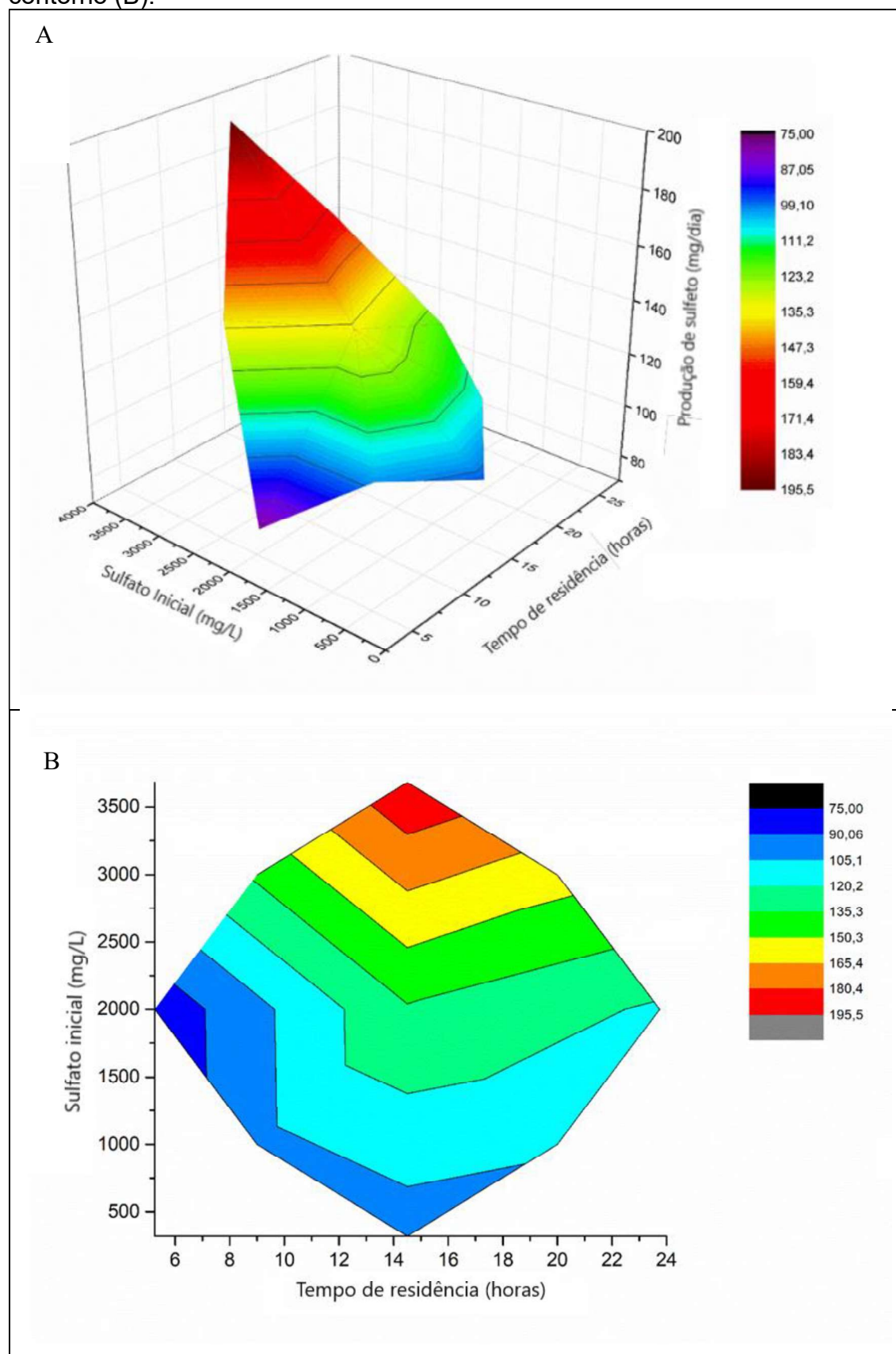
Figura 17: Concentração de sulfeto e sulfato no reator A.



Fonte: Autor.

Depois de 30 dias de fornecimento de nutrientes para estabilização e crescimento da biomassa, deu-se início ao planejamento fatorial central composto que resultou os gráficos tridimensionais e as superfícies de contorno representados nas Figuras 18 a 23. Para facilitar a visualização dos resultados, todos os gráficos tridimensionais gerados foram apresentados junto com suas respectivas superfícies de contorno.

Figura 18: Resposta da produção de sulfeto pelas variáveis tempo de residência e concentração de sulfato inicial no Reator A. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).



Fonte: Autor.

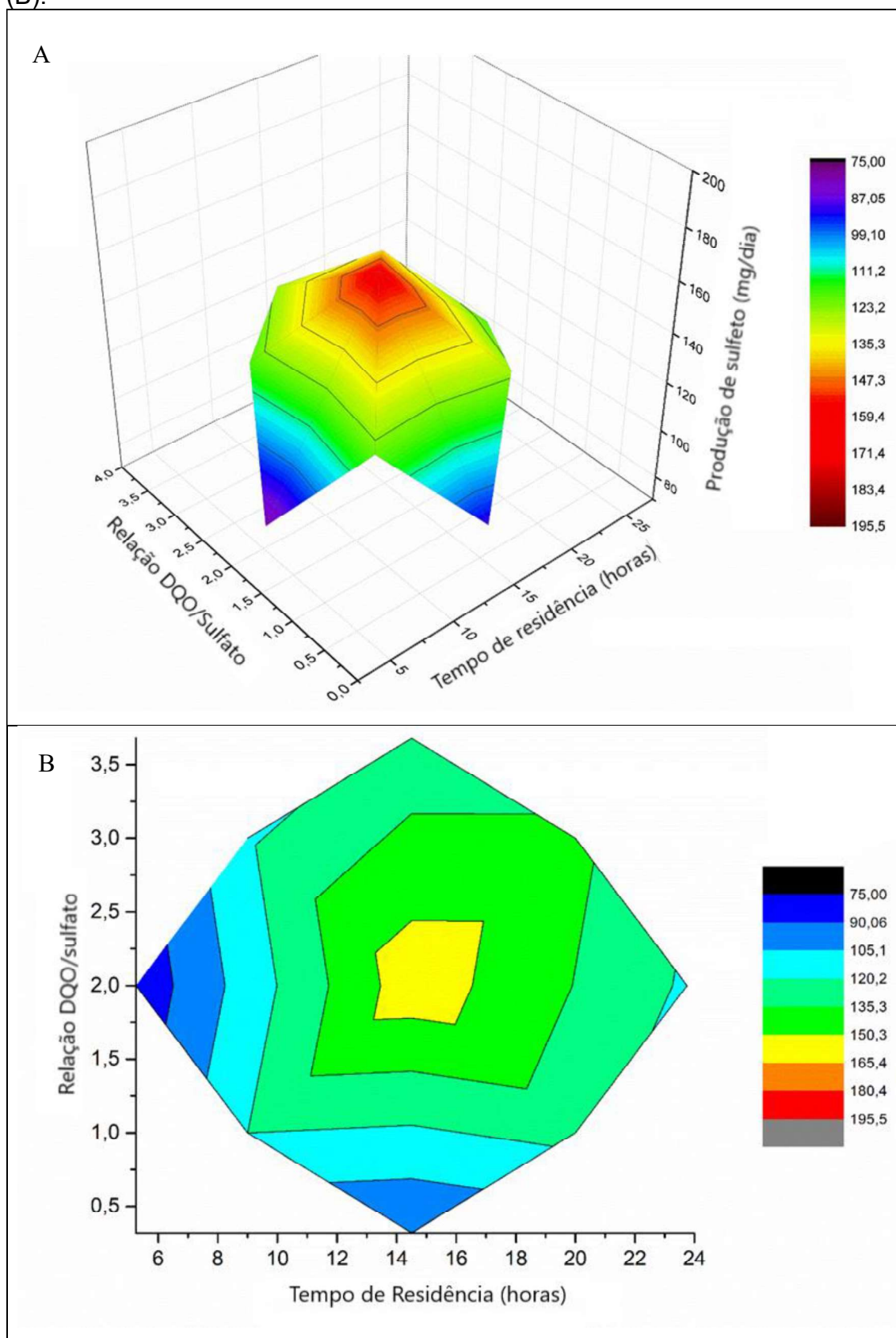
A figura 18A mostra a superfície tridimensional e sua respectiva superfície de contorno que representam a produção de sulfeto com relação ao tempo de residência e concentração de sulfato inicial. Se observa que a máxima produção ocorre em concentração de sulfato inicial superior a 3000 mg L⁻¹ e em tempo de residência de aproximadamente 15 horas, e esta produção é menor quando se fornece menores concentrações de sulfato, como descrito também na literatura (Sarti *et al.*, 2010).

Também é possível observar que em tempos de residência muito pequenos (menores que 12 horas) a produção de sulfeto diária também é menor porque não há tempo suficiente para o consumo do sulfato pelos micro-organismos, que ocorre pois este composto é o receptor final de elétrons do consumo do etanol que é o doador. Entretanto, em valores mais elevados de tempos de residência (acima de 20 horas), a quantidade de solução contendo sulfato fornecida é menor, e se produz menos sulfeto e uma outra justificativa desta baixa produção é o fato de que o sulfeto é um composto muito instável, possivelmente se degradando após algumas horas depois de sua formação, fazendo com que a produção em altos tempos de residência seja menor.

Com relação a quantidade de sulfeto produzida, da ordem de 200 gS²⁻ h⁻¹ (concentração em solução de 150-200 mg L⁻¹) é baixa porque se trata de um reator de apenas 1,5 L de volume útil e está descrito na literatura que o processo de redução de sulfato pode ser inibido por concentrações de sulfeto superiores a 100 mg L⁻¹ de S²⁻ (Silva *et al.*, 2002). Uma possibilidade para evitar isso seria o uso de reatores maiores ou otimizar o processo em menores tempos de residência.

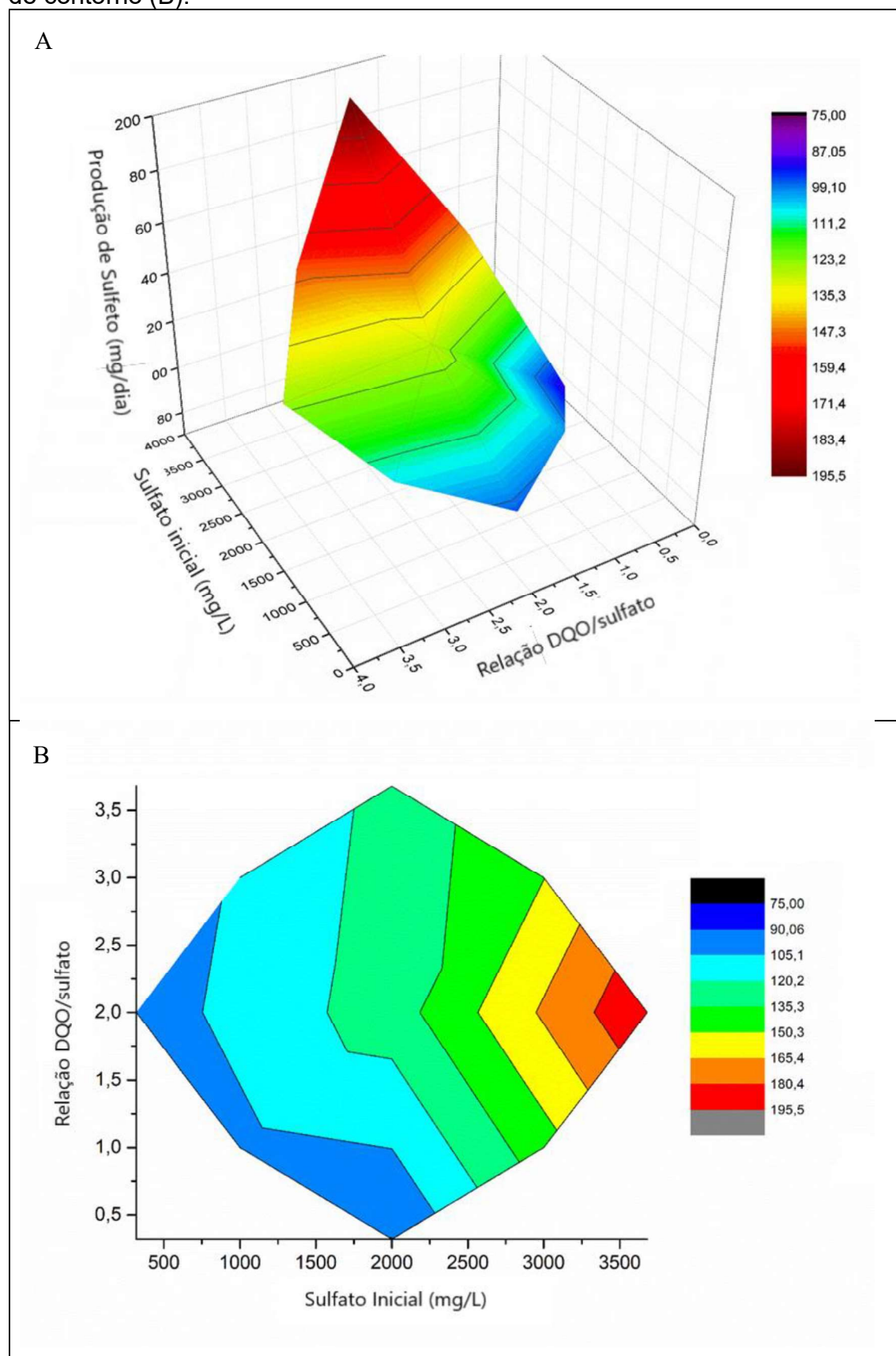
A figura 19 mostra o resultado da produção de sulfeto com relação ao tempo de residência e relação DQO/sulfato e pode-se observar que o ótimo para esta resposta ocorre em tempo de residência de 13-17 horas, que é o mesmo obtido para esta variável em conjunto com a variável sulfato inicial (Figura 18), mostrando congruência entre os resultados obtidos. Entretanto, o ótimo de produção ocorre em valores intermediários de relação DQO/sulfato, fato que pode ser explicado porque quando se fornece quantidades muito grandes de matéria orgânica, as sulfato redutores podem ser desfavorecidas em relação as metanogênicas e acetogênicas.

Figura 19: Resposta da produção de sulfeto das variáveis empo de residência e Relação DQO/sulfato no Reator A. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).



Fonte: Autor.

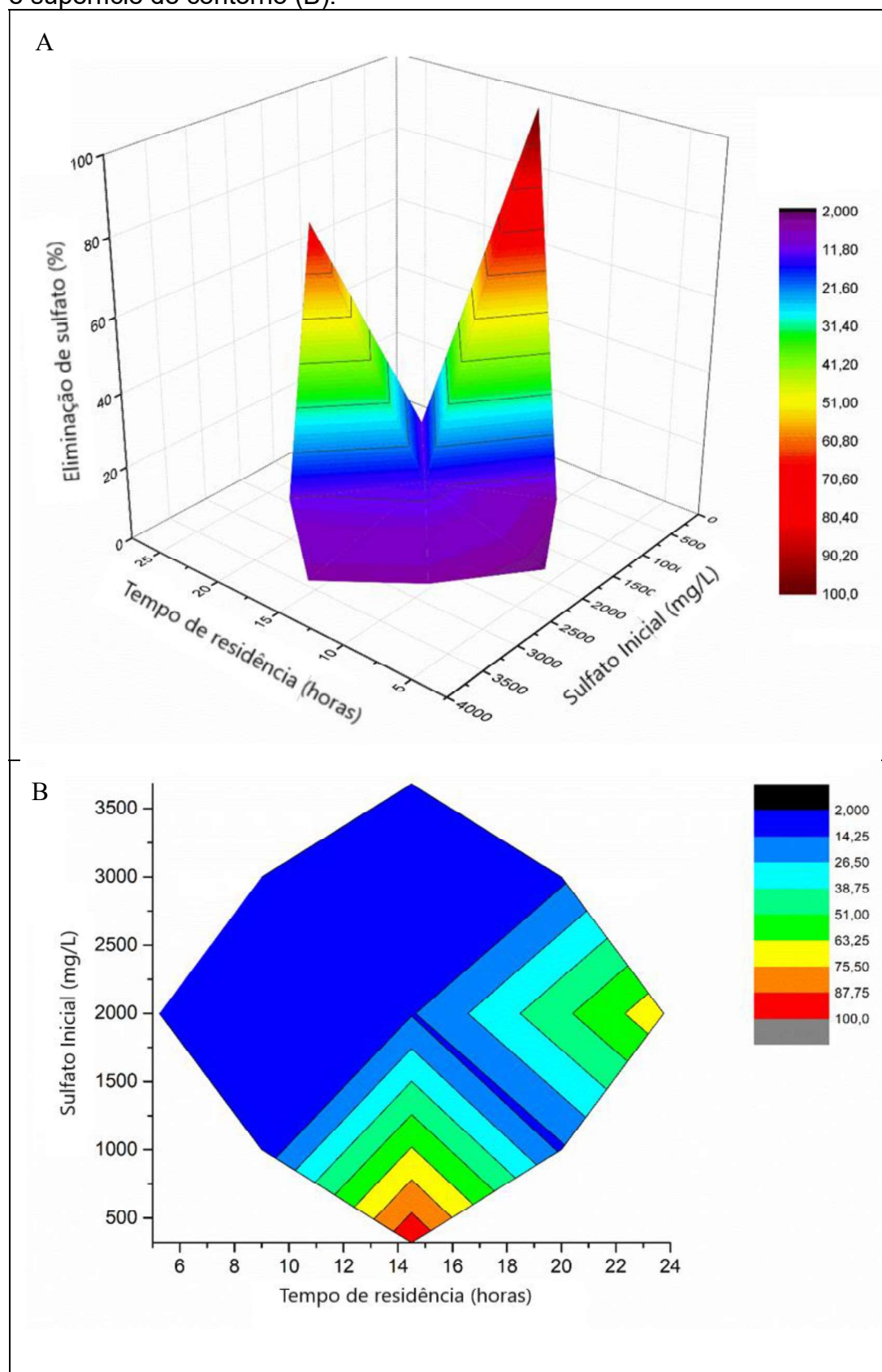
Figura 20: Resposta da produção de sulfeto pelas variáveis Concentração de sulfato inicial e relação DQO/sulfato no Reactor A. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).



Fonte: Autor.

Na Figura 20 se observa os resultados para a resposta produção diária de sulfeto com relação as variáveis sulfato inicial e relação DQO/sulfato, também mostrando congruência dos resultados para os valores ótimos apresentados na Figura 19, na qual a maior produção ocorre em altos valores de sulfato inicial fornecidos e relação DQO/sulfato intermediárias, próximas a 2,0. Estes valores também são encontrados em trabalhos semelhantes que mostram a influência da relação DQO/sulfato na produção de sulfeto (Archilha *et al.*, 2010). Um fator importância a se observar é a interação entre as variáveis, que mostra que em valores da relação DQO/sulfato inferiores a 1,0 a produção de sulfeto é menor do que a metade obtida para a região ótima, entretanto em valores de DQO/sulfato superiores a 3,0 isso não ocorre.

Figura 21: Resposta para Porcentagem de eliminação de sulfato das variáveis tempo de residência e Concentração de sulfato no Reator A. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).



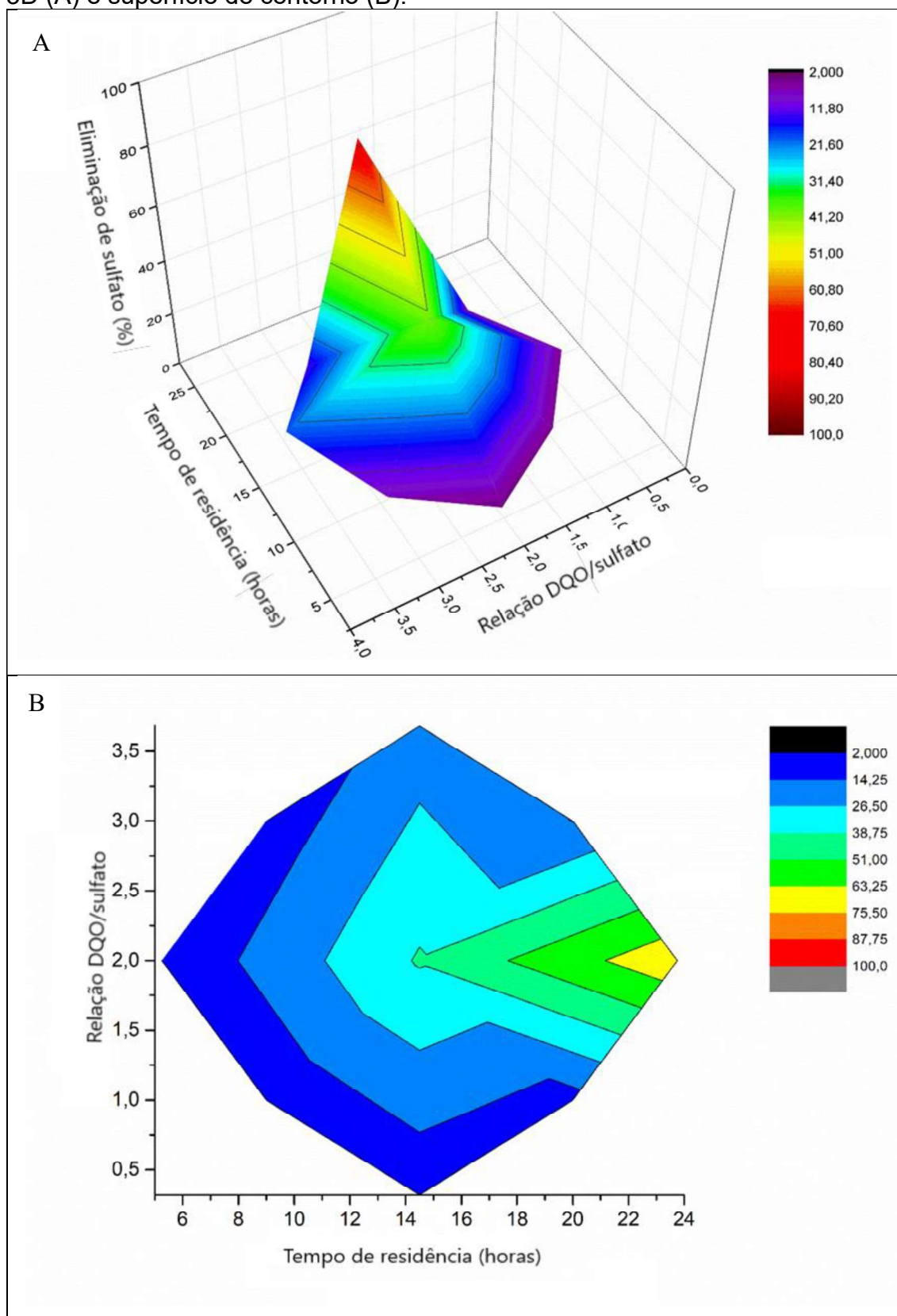
Fonte: Autor.

Na Figura 21 estão apresentados os resultados de porcentagem de eliminação de sulfato com relação as variáveis sulfato inicial e tempo de residência e pode-se observar que a maior porcentagem de remoção obtida foi com concentração de sulfato inicial de 320 mg L⁻¹ mesmo em tempo de residência de 14 horas que é considerado baixo para a eliminação de sulfato, e isso ocorre porque esta concentração inicial é muito pequena e fácil de ser eliminada. Entretanto, com o aumento da concentração de sulfato inicial observa-se uma queda no rendimento de eliminação, principalmente em tempos de residência menores.

Fixando a variável sulfato inicial em 2000 mg L⁻¹ se observa que com o aumento do tempo de residência, se obtém uma maior porcentagem de eliminação, até valores próximos a 65% com 24 horas de tempo de residência. A região de baixa porcentagem de eliminação que está entre os dois picos de maiores rendimentos pode ser explicada porque com o aumento da concentração inicial observa-se um decréscimo da porcentagem de eliminação até o ponto em que o tempo de residência se torna maior, dando oportunidade para que os micro-organismos façam a redução do sulfato e aumentando a porcentagem de eliminação deste íon nesta região da superfície de contorno.

É importante ressaltar que há uma grande região de baixa eliminação de sulfato mostrada na Figura 19, que é justamente a região de menores tempos de residência e altas concentrações de sulfato inicial, mostrando que estas condições são extremas e o processo de redução de sulfato é pouco efetivo, e por esse motivo foram feitos estudos da eliminação de sulfato em altos tempos de residência no Reator B.

Figura 22: Resposta da Porcentagem de eliminação de sulfato para as variáveis tempo de residência e relação DQO/sulfato no Reator A. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).



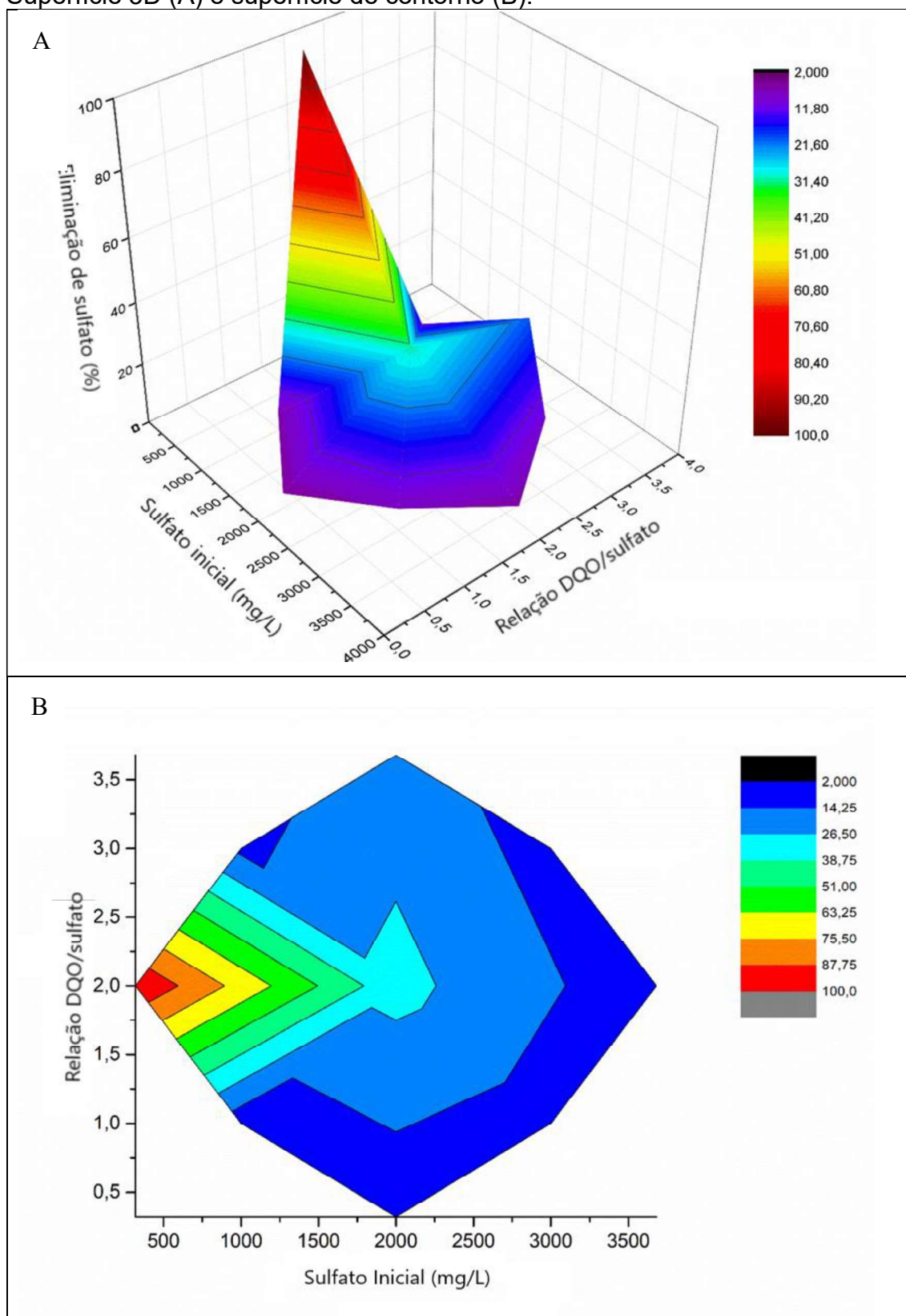
Fonte: Autor.

A Figura 22 mostra a porcentagem de eliminação de sulfato obtida para as variáveis tempo de residência e relação DQO/sulfato e o máximo de eliminação ocorre em 24 horas de tempo de residência e 2,0 de relação DQO/Sulfato, e fixando esta relação neste valor observa-se uma redução da eliminação em tempos de residência menores, como descrito também na Figura 8. E fixando o tempo de residência em 14 horas observa-se que variações tanto acima quando abaixo de 2,0 da relação DQO/sulfato, provoca diminuição da porcentagem de remoção.

Também é possível observar a interação entre os parâmetros, pois influência da relação DQO/sulfato na porcentagem de eliminação é maior em tempos de residência mais elevados, por exemplo, com tempo de residência de 22 horas, os rendimentos de eliminação diminuem de 75 para 38% com a DQO/sulfato de 2,0 para 2,5, e em tempo de residência menor, como 10 horas, a porcentagem de eliminação diminui de 24 para 14% com a relação DQO/sulfato de 2,0 para 2,5, mostrando que há uma interação entre estes parâmetros, que por sua vez só poderia ser vista em um planejamento fatorial.

A Figura 23 mostra a superfície de resposta da porcentagem de eliminação de sulfato com relação as variáveis concentração de sulfato inicial e relação DQO/sulfato. Se observa que o máximo de rendimento é obtido em baixas concentrações de sulfato inicial e relação DQO/sulfato de 2,0, como também descrito anteriormente. E a interação entre as variáveis fica clara pois em valores de sulfato inicial maiores que 2000 mg L⁻¹, a variável DQO/sulfato não apresenta tanta influência como em baixos valores de sulfato inicial.

Figura 23: Resposta da Porcentagem de eliminação de sulfato para as variáveis Concentração de sulfato inicial e relação DQO/sulfato no Reator A. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).



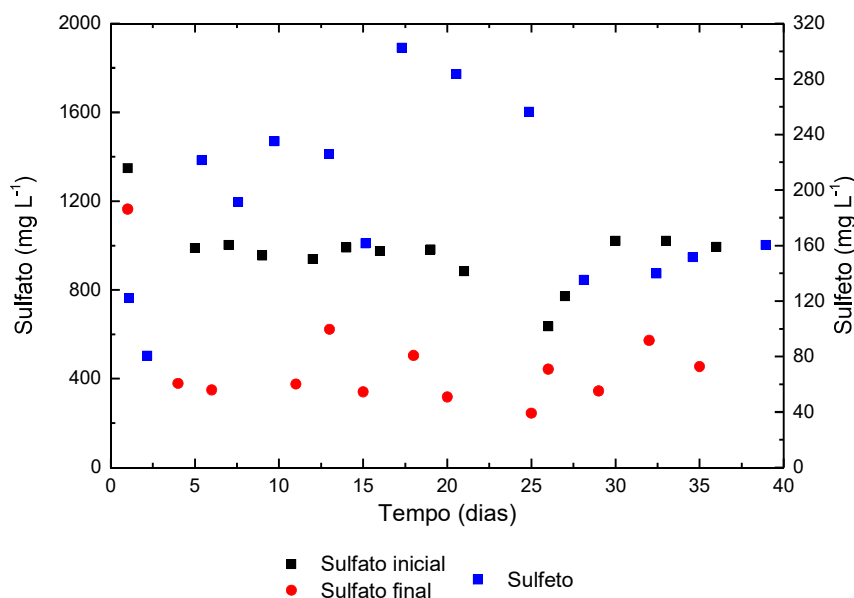
Fonte: Autor.

Foi observado nos gráficos anteriores que a produção de sulfato é maior em tempos de residência menores, mas a porcentagem de remoção de sulfato necessita um maior tempo de residência, por esse motivo foram realizados experimentos com um maior alcance (8,2 até 41,8 horas) desta variável visando otimizar a eliminação de sulfato no reator B, cujos resultados estão apresentados no tópico 5.2.2 abaixo.

5.2.2. Reator B para otimização da eliminação de sulfato

A Figura 24 mostra os resultados de sulfato obtidos para o reator B com relação ao sulfato inicial, final e concentração de sulfeto em solução durante o período de crescimento e estabilização da biomassa. É possível observar que em 5 dias o reator foi capaz de eliminar aproximadamente 60% do sulfato fornecido, reduzindo a concentração deste composto de 1000 mg L^{-1} para 400 mg L^{-1} . E com relação a concentração de sulfeto em solução, é possível observar um período de instabilidade e grandes variações até o 26, a partir do qual se estabiliza.

Figura 24: Concentrações de sulfeto e sulfato no reator B.

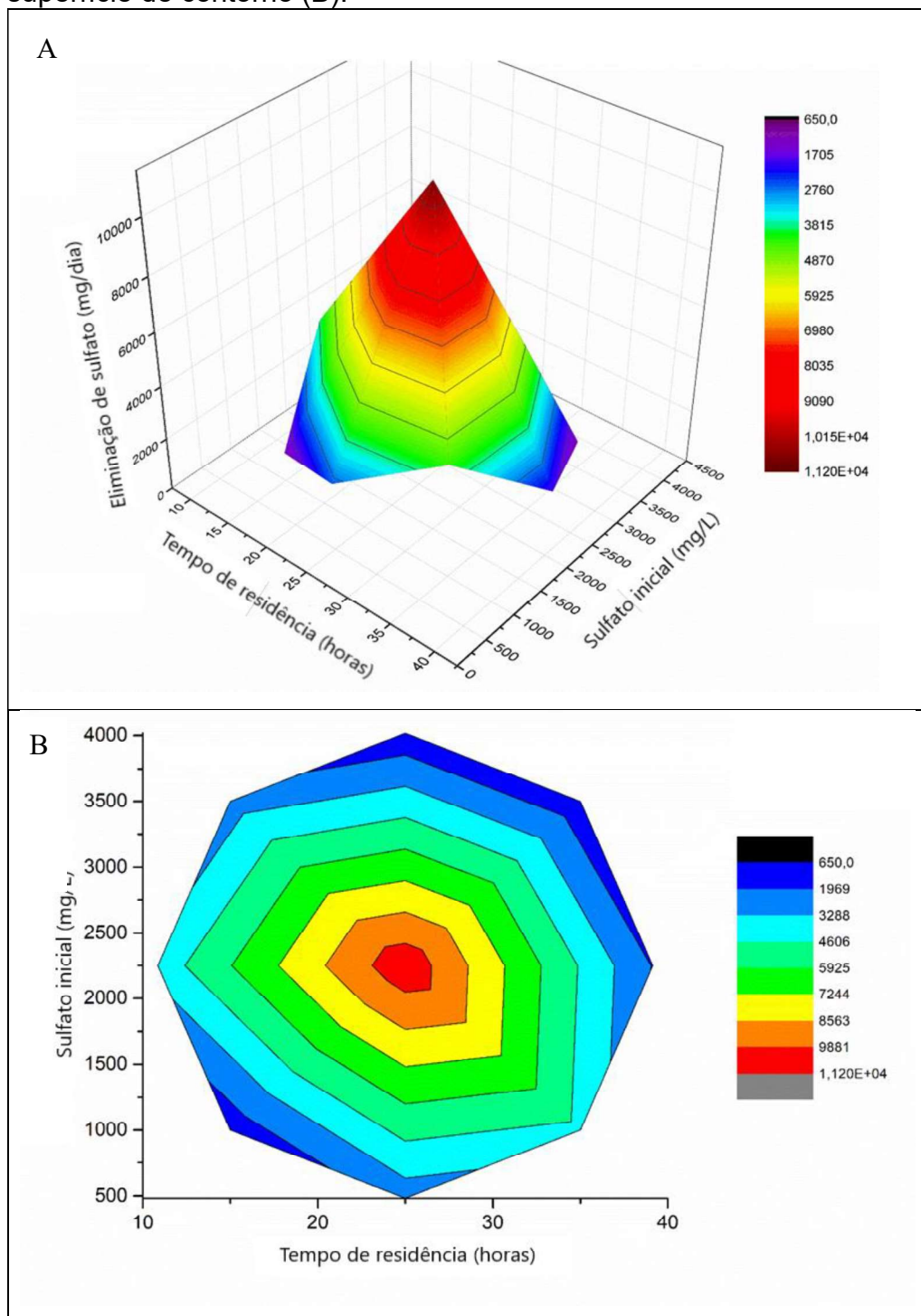


Fonte: Autor.

Depois de 37 dias de fornecimento de nutrientes para desenvolvimento da biomassa sobre o material suporte do reator B, deu-se início aos experimentos do desenho fatorial central composto que resultou nos gráficos nas figuras 25 a

28. Para facilitar a visualização e compreensão dos gráficos, cada superfície tridimensional foi representada também como sua respectiva superfície de contorno.

Figura 25: Resposta da Eliminação de sulfato diária das variáveis tempo de residência e Concentração de sulfato inicial no Reator B. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).



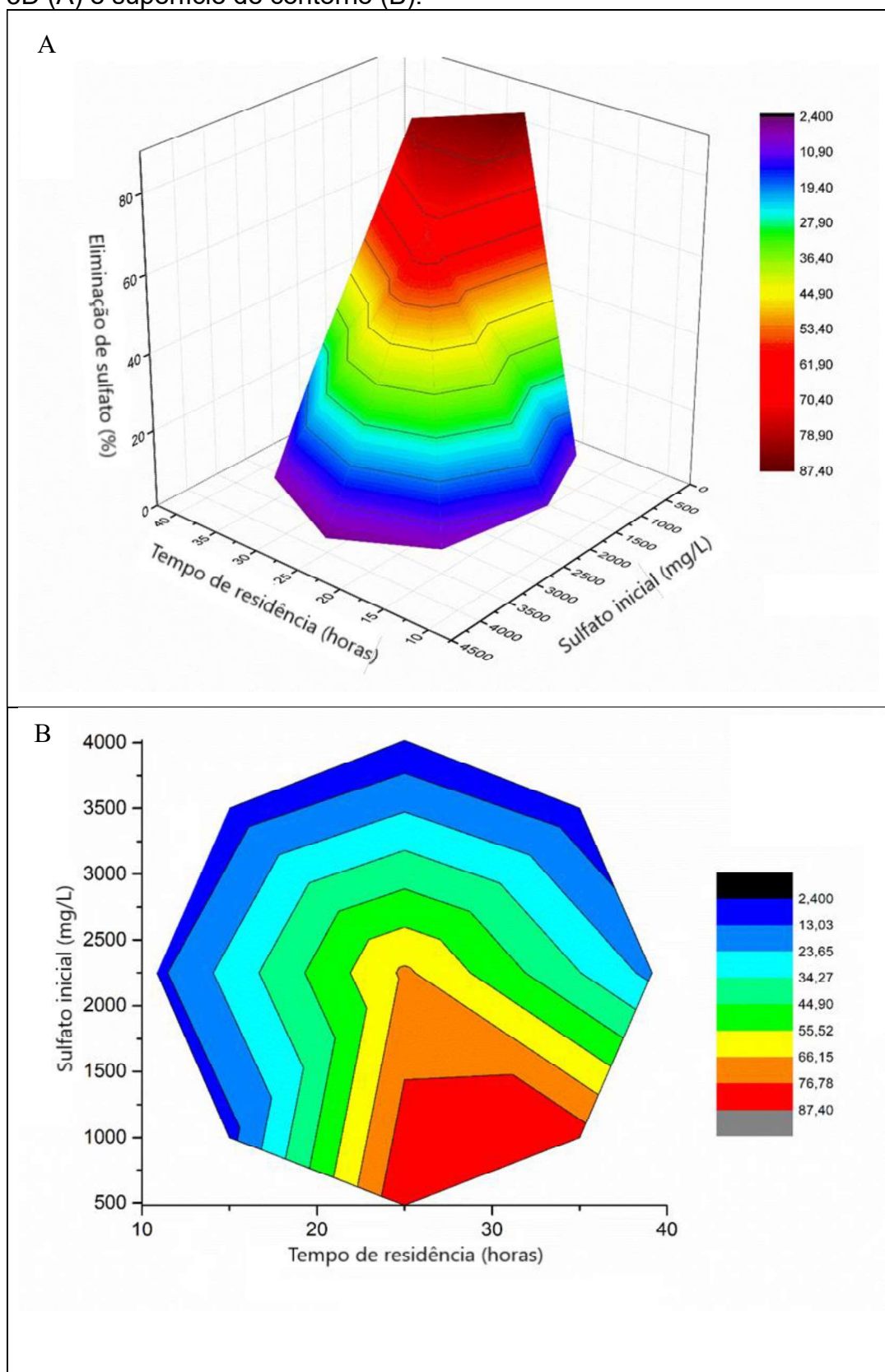
Fonte: Autor.

A Figura 25 mostra a resposta da quantidade diária de sulfato eliminada, para as variáveis tempo de residência e concentração de sulfato inicial no reator B. O valor ótimo obtido foi de $11 \text{ gSO}_4^{2-} \text{ dia}^{-1}$ no tempo de residência de 25 horas. Com a variação do tempo de residência de 25 para mais, a eliminação é menor porque se fornece menores quantidades de afluente contendo sulfato, y variando o tempo de residência para valores menores, os micro-organismos não tem tempo suficiente para o consumo de etanol e uso do sulfato como aceptor final de elétrons, fazendo com que o rendimento de eliminação seja menor.

Com relação a variável concentração de sulfato inicial, se observa que em valores intermediários ($2000\text{-}2500 \text{ mg L}^{-1}$) ocorre a eliminação ótima deste composto. Fornecendo uma concentração de sulfato menor, se observa uma maior porcentagem de eliminação, como mostra a Figura 26, entretanto a quantidade diária eliminada é menor. Mas quando se fornece concentrações muito elevadas deste íon, a eliminação é menor porque se acumula sulfeto em solução, que inibe o metabolismo das sulfato redutoras como discutido anteriormente.

Se observa na Figura 26 que o ótimo de porcentagem de eliminação de sulfato foi obtido em uma região de pequena concentração inicial de sulfato ($500\text{-}1000 \text{ mg L}^{-1}$) e em tempos de residência mais elevados (25-35 horas), resultado que corrobora com os obtidos para o reator A. Variando a concentração de sulfato inicial para mais, reduz a porcentagem de eliminação principalmente porque se alcança a capacidade máxima de eliminação (em quantidade, Figura 23) nos 2250 mg L^{-1} e depois disso o acúmulo de sulfeto em solução passa a inibir os micro-organismos, diminuindo o rendimento de eliminação.

Figura 26: Resposta da Porcentagem de eliminação de sulfato das variáveis Tempo de residência e Concentração de sulfato inicial no Reator B. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).



Fonte: Autor.

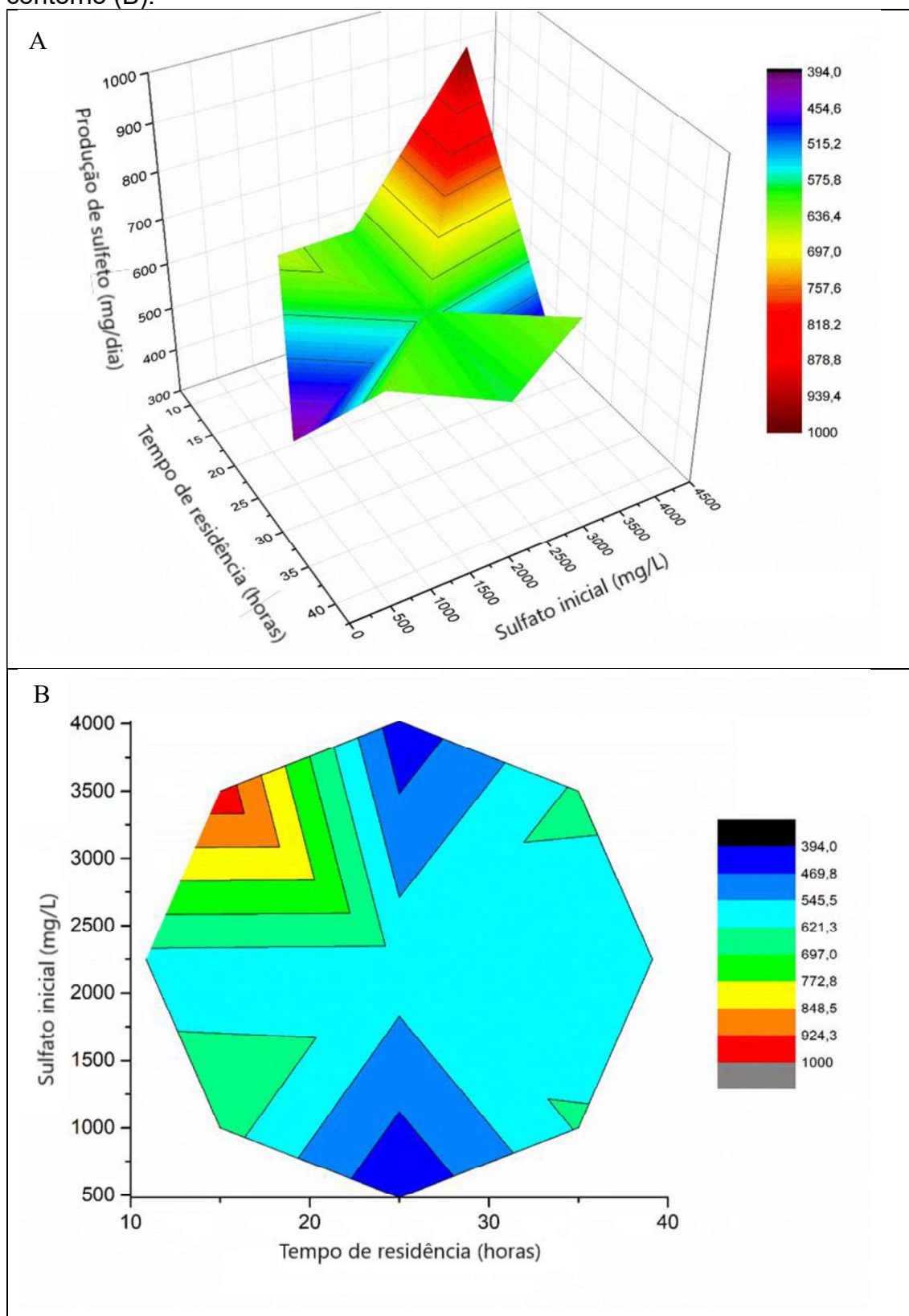
A Figura 27 mostra a superfície de resposta de produção de sulfeto diária para as variáveis tempo de residência e concentração de sulfato inicial. Se observa que o ótimo de produção ocorre com aproximadamente 3500 mgL⁻¹ de sulfato inicial e tempo de residência de 15 horas, corroborando os resultados obtidos para o reator A.

Considerando o volume de cada reator, a quantidade específica por volume (nos pontos ótimos) de produção de sulfeto do reator A é 130 mgS⁻² dia⁻¹ L⁻¹_{reator} e para o reator B é de 132 mgS⁻² dia⁻¹ L⁻¹_{reator}, mostrando reprodutibilidade e concordância entre os reatores, mesmo que o segundo tenha volume 5x maior do que o primeiro.

No reator B também foi estudada a conversão etanol-acetato (Figura 28) para as variáveis tempo de residência e concentração de sulfato inicial. Foi obtida uma conversão máxima de 43% no ponto central (2250 mg L⁻¹ sulfato inicial e tempo de residência de 25 horas) e também valores de conversão maiores que 40% para as regiões de 25-35 horas de tempo de residência com concentrações de sulfato inicial superiores a 2500 mg L⁻¹. Uma explicação para isso é que nesta região de condições proporciona ao sistema altas concentrações de sulfeto em solução que inibem os micro-organismos metanogênicos, fazendo com que a DQO permaneça na forma de acetato, como descrito no trabalho de Sarti *et al* (2010).

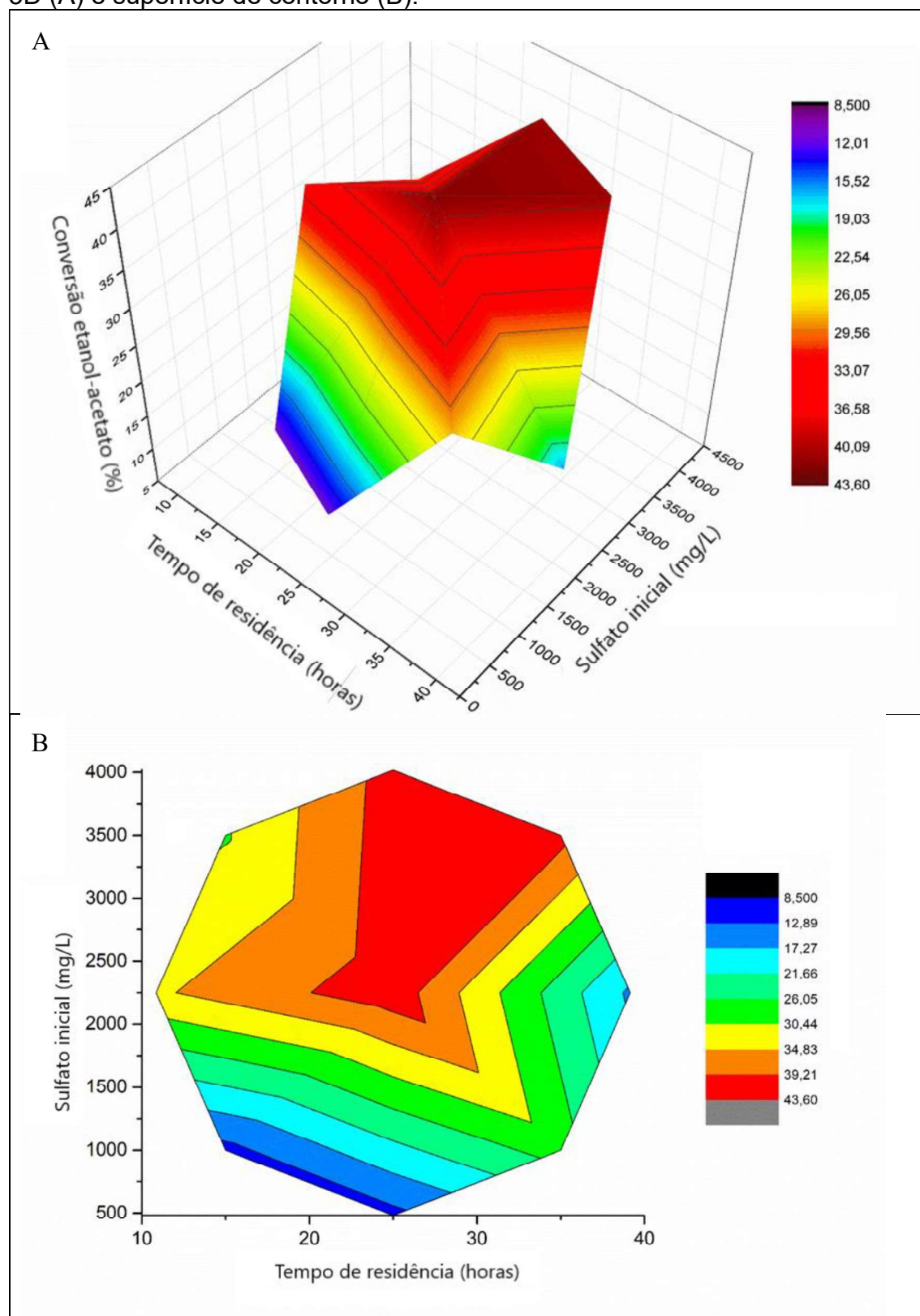
Entretanto, quando se fornece uma solução de concentração menor de sulfato inicial se observa uma menor conversão de etanol a acetato e visualmente se observava no sistema uma maior formação de gases (não quantificados neste estudo) que provavelmente é composto por metano, o que abre possibilidades de estudos também com este propósito.

Figura 27: Resposta para Produção sulfeto das variáveis Tempo de residência e Concentração de sulfato inicial no Reator B. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).



Fonte: Autor.

Figura 28: Resposta da Porcentagem de conversão etanol-acetato das variáveis Tempo de residência e Concentração de sulfato inicial no Reator B. Superfície 3D (A) e superfície de contorno (B).



5.3. Resultados biofiltro Percolador

5.3.1. Desenvolvimento do biofilme sobre material suporte

A segunda etapa realizada no presente trabalho foi o estudo do biofiltro percolador em escala de bancada individualmente, utilizando como fonte de sulfeto o biogás gerado no UASB da Companhia Matonense de Saneamento. Durante o período de imobilização do biofilme e estabilização do biofiltro (quando observado não haver alteração no consumo de nitrato, 43 dias) foi observado que o sistema foi capaz de eliminar H_2S do biogás fornecido logo nos primeiros dias de operação, entretanto, a eliminação deste contaminante ocorreu através da oxidação parcial do sulfeto, formando grandes quantidades de enxofre elementar, visualmente observado nas Figuras 10 e 29. Após o fornecimento de nitrato em excesso ao sistema (N-NO_3^- sempre em valores maiores que 2 g L^{-1}), a formação de enxofre durante o período de operação foi menor, favorecendo a rota de oxidação total do sulfeto para sulfato.

Visualmente pode-se observar a mudança do biofilme formado sobre o material suporte após 40 dias de operação, seguido pela estabilização do consumo nitrato ($0,26 \text{ g N-NO}_3^- \text{ L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) fornecido e formação de grandes quantidades de sulfato em solução, indicando a oxidação total do contaminante tratado. Por esses motivos, deu-se início aos estudos das variáveis no biofiltro percolador.

Figura 29: Formação de enxofre elementar sobre o material suporte.

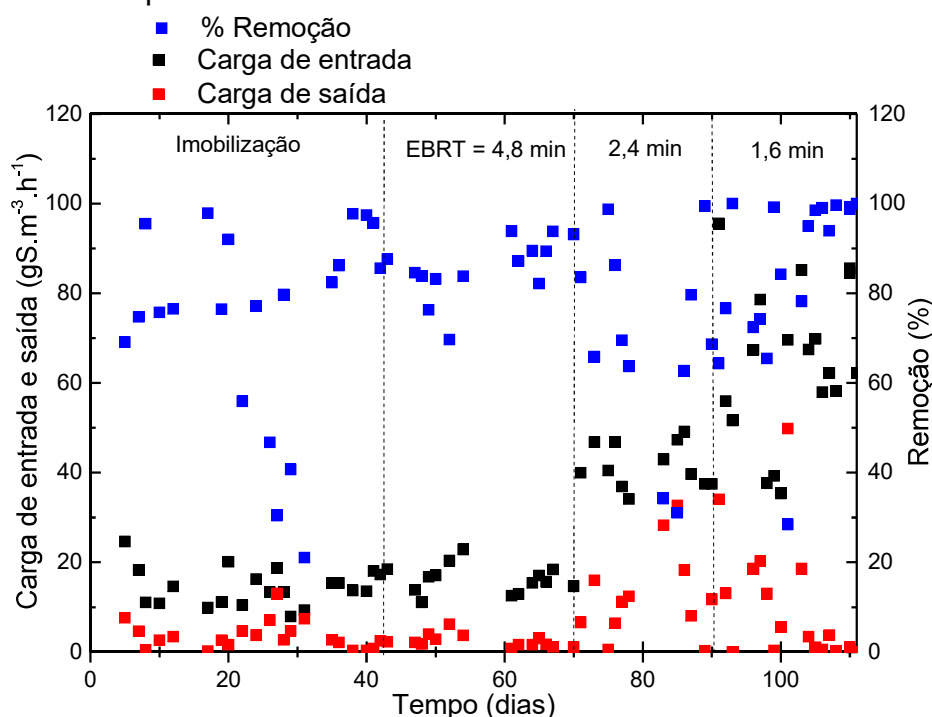


Fonte: Autor.

5.3.2. Influência da carga de sulfeto fornecida

Durante os 70 primeiros dias de operação, a vazão de gás fornecida foi de 0,5 L/min, implicando em um tempo de residência de 4,8 minutos e carga média de sulfeto fornecida de $15,5 \pm 3,09$, $\text{gS m}^{-3} \text{h}^{-1}$ e apresentou uma remoção média de $80,06 \pm 13,81$ % do sulfeto fornecido. Também foram feitos experimentos com tempos de residência de 2,4 minutos e 1,6 minutos, com carga média de 39,9 e $57,9 \text{ gS m}^{-3} \text{h}^{-1}$, que apresentaram remoção de $71,89 \pm 14,33$ e $89,83 \pm 14,97$ respectivamente, como pode ser observado na Figura 30.

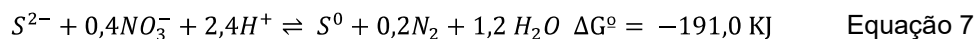
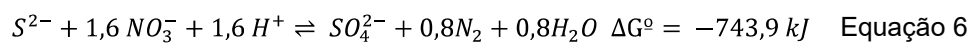
Figura 30: Porcentagem de remoção e cargas de afluente e efluente durante 111 dias de experimento.



Fonte: Autor.

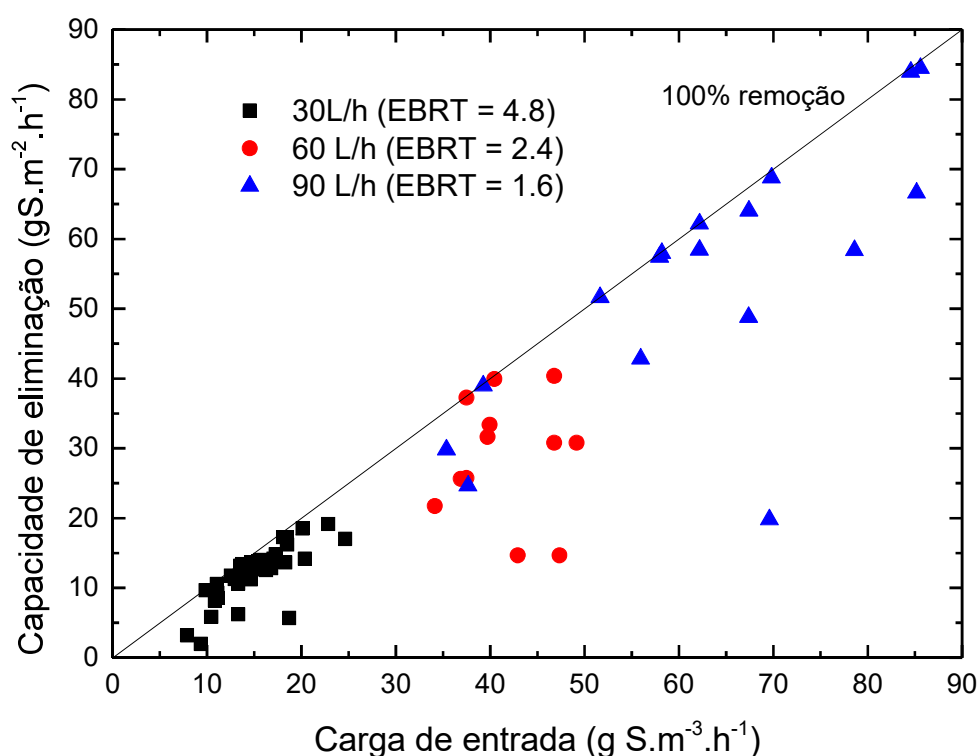
A diminuição da porcentagem de remoção nos dias 25-30 e 50 foram causadas pela alta quantidade de enxofre elementar formada no biofiltro (Figura 29), que como já reportado na literatura (Guerrero e Bevilaqua, 2015) impede a transferência de massa, dificultando a eliminação do H_2S . A formação de enxofre em biofiltros percoladores anóxicos ocorre em baixa relação NO_3^-/S , promovendo apenas a oxidação parcial do sulfeto a S^0 , como mostrado nas Equações 6 e 7. Portanto nos dias em que o fornecimento de biogás foi cessado (29 e 56), também foram adicionados 3 g L^{-1} de N-NO_3^- para auxiliar a conversão

do enxofre elementar a sulfato e foi possível observar visualmente a eliminação deste composto no biofiltro, seguida pelo aumento da porcentagem de remoção de H_2S .



Durante o mesmo período foi realizado um estudo da carga de enxofre na forma de H_2S removida em relação a carga fornecida, como observado na Figura 31. Pode-se observar que em valores mais baixos de carga fornecida, a distribuição de pontos de porcentagem de remoção está mais próxima da linha de 100%, e com o aumento da vazão e consequentemente da carga fornecida, a distribuição de pontos mostra uma maior variação da porcentagem de remoção, mas sempre mantendo a porcentagem média de remoção acima de 70%.

Figura 31: Estudo da carga de enxofre removida em relação a carga fornecida.



Fonte: Autor.

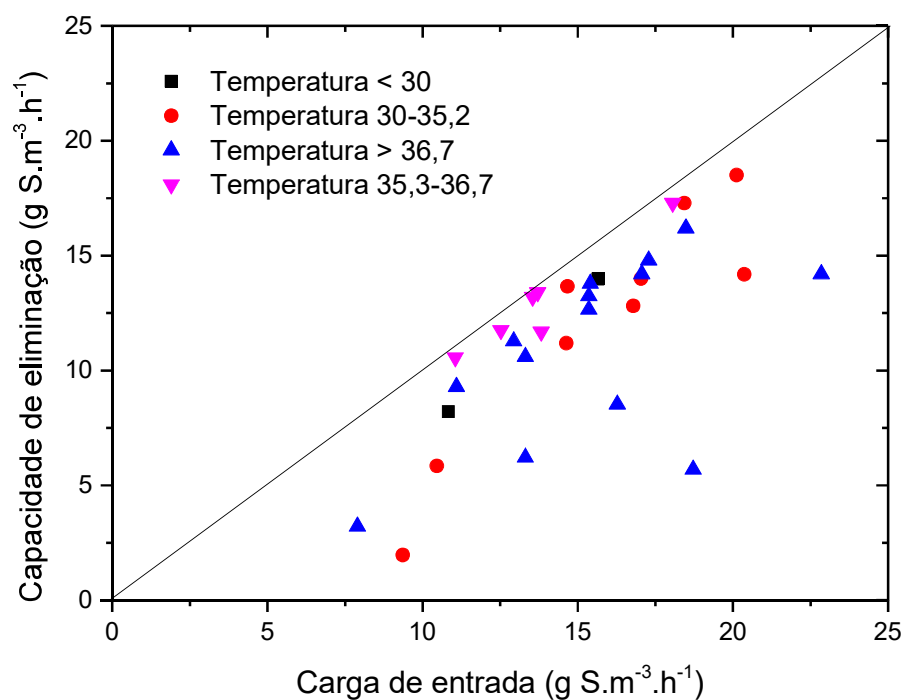
Na Figura 31 é possível observar que existem 2 pontos de baixa capacidade de eliminação respectivos a tempo de residência = 2,4 minutos e 1 ponto respectivo a tempo de residência de 1,6 minutos, cuja baixa eliminação é justificada pelos extremos de temperatura apresentados nestes dias, onde nos dois primeiros, foram dias que apresentaram temperaturas superiores a 39 °C e no terceiro ponto citado, a temperatura foi de 27 °C, a mais baixa registrada durante todos os 111 dias de operação.

A capacidade de eliminação obtida com este material suporte é comparável com resultados encontrados na literatura para materiais suportes tradicionais como espuma de poro aberto de poliuretano (Ramirez, M. *et al*, 2011; Fernandez, M. *et al*, 2014) com 70 e 89,2 gS m³ h⁻¹ respectivamente e anéis tipo Pall 201 gS m³ h⁻¹ (Fernandes, M. *et al*, 2013), demonstrando um potencial de aplicação em maiores escalas.

5.3.3. Influência da temperatura na eliminação de sulfeto

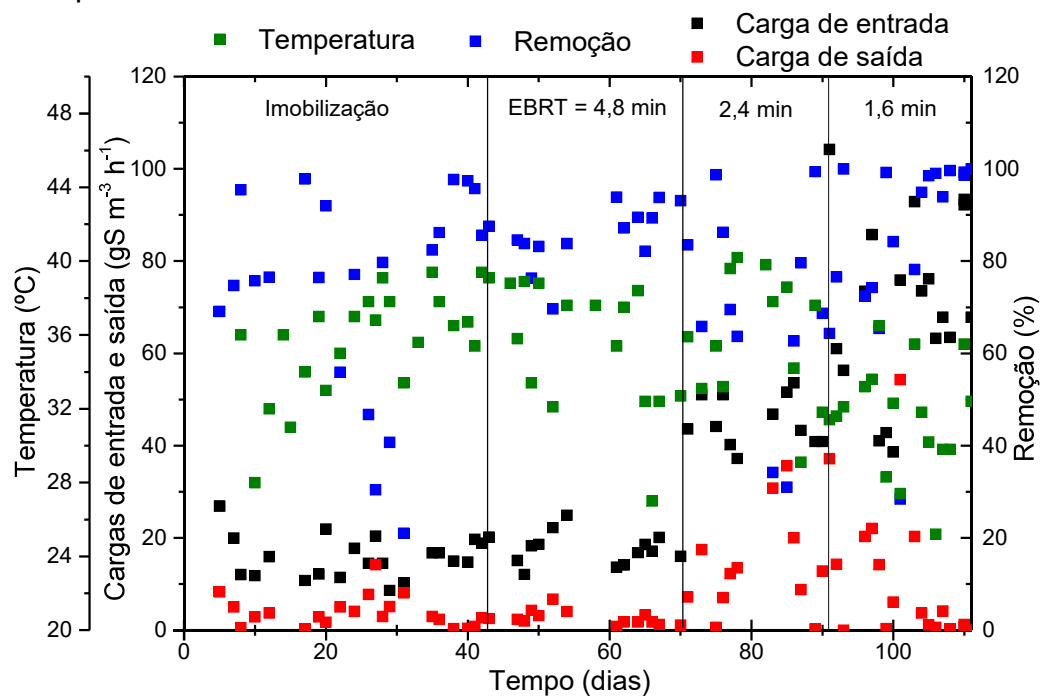
Um fator determinante para a remoção deste contaminante é a temperatura e por esse motivo sua influência foi estudada no período de fornecimento de 0,5 L/min de gás (Figura 32). A temperatura ótima de remoção determinada foi de 36°C ± 0,7, na qual o valor médio de remoção foi de 95,72% ± 4,50 e para as faixas de temperaturas de 25,0 a 29,9; 30,0 a 35,2 e >36,7°C as médias de remoção foram 82,52 ± 6,80, 76,31 ± 13,92 e 83,50 ± 21,65 % respectivamente, indicando que para valores maiores e menores do que o ótimo determinado, o rendimento de remoção é afetado negativamente.

Figura 32: Estudo da influência da temperatura na capacidade de eliminação.



Fonte: Autor.

Figura 33: Porcentagem de remoção de sulfeto com relação a carga de entrada e temperatura diária.



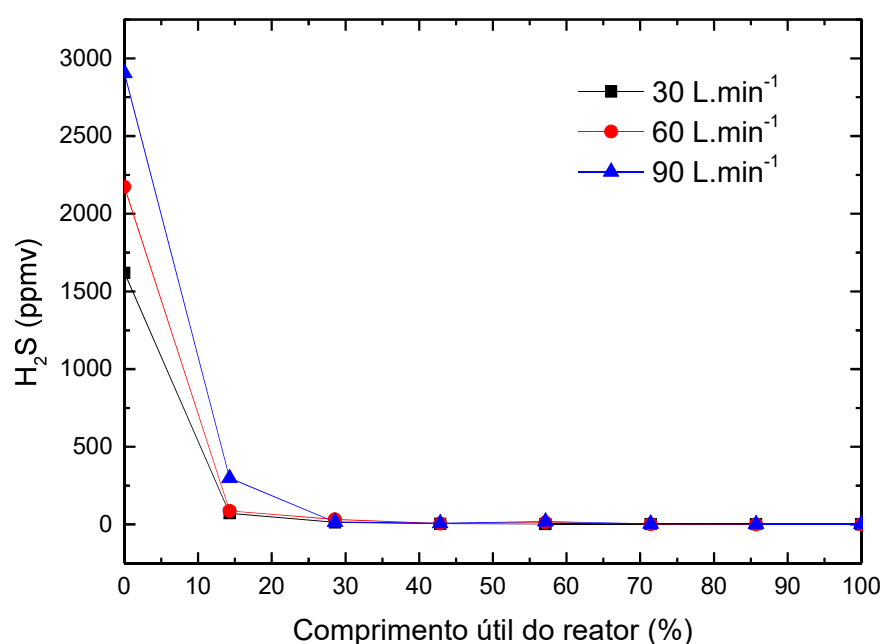
Fonte: Autor.

Na Figura 33 que mostra a porcentagem de remoção com relação a temperatura não se observa visualmente a relação entre estes parâmetros, entretanto como calculado e descrito na discussão da Figura 32, a temperatura tem influência no processo de remoção, variando o rendimento de 76,31 a 95,72 % na remoção dos contaminantes na pior e melhor faixa de temperatura identificada para este sistema. Portanto é importante ressaltar que mesmo não observando visualmente a influência em cada ponto, é um parâmetro que tem que ser controlado, pois na média de todos os pontos coletados ele apresenta um maior rendimento de eliminação de sulfeto.

5.3.4. Eliminação de sulfeto em diferentes alturas do biofiltro percolador

Foram realizadas medidas em diferentes pontos de coleta do biofiltro percolador (Figura 34) e foi possível observar que com tempo de residência de 4,8 e 2,4 minutos, todo o gás foi removido em apenas 15% da altura útil do reator, e tempo de residência de 1,6 minutos, todo o H_2S foi eliminado em menos de 30% do biofiltro percolador, indicando que ele possui capacidade de operar com vazões superiores e tratar uma maior quantidade de biogás contaminado em menos tempo.

Figura 34: Estudo da remoção de gás em diferentes alturas do biofiltro percolador.



Fonte: Autor.

Com os resultados obtidos para o Biofiltro Percolador é possível afirmar que as tiras de PVC utilizadas como material suporte alternativo apresentam resultados equivalentes ao encontrado na literatura e indicam que possui potencial para uso em altas cargas de sulfeto, o que mostra uma potencial inovação no uso de materiais suportes de baixo custo principalmente para aplicação em maior escala, onde o custo deste material pode ser elevado.

6. Conclusões

- Através dos resultados do planejamento fatorial central composto foi possível determinar que para o reator contínuo de leito fixo utilizado, o tempo de residência de 15 horas, relação DQO/sulfato de 2,0 e concentrações de sulfeto inicial acima de 3000 mg L⁻¹ foram os parâmetros em que a produção de sulfeto diário foi maior.
- A maior porcentagem de eliminação de sulfato ocorreu com tempos de residência entre 25 e 35 horas e com concentrações de sulfeto iniciais inferiores a 1000 mg L⁻¹. Entretanto a maior quantidade diária de sulfeto eliminada ocorreu com tempo de residência de 25 horas e concentração de sulfato inicial de 2250 mg L⁻¹.
- Quando fornecidas concentrações de sulfato inicial acima de 3500 mg L⁻¹, a alta produção de sulfeto faz com que sua concentração acima de 200 mg L⁻¹ em solução iniba os micro-organismos metanogênicos, resultando em um acúmulo de acetato em solução.
- As tiras de PVC utilizadas como material suporte alternativo para biofiltros percoladores apresentaram resultados comparáveis com encontrados na literatura de materiais específicos para esta finalidade, como a espuma de poro aberto de poliuretano, mostrando uma potencial aplicabilidade deste material.
- A faixa ótima de temperatura obtida para o biofiltro percolador no tratamento de H₂S da estação de tratamento de esgotos de Matão foi de 35,3 a 36,7 °C e temperaturas superiores e inferiores a esta resultou em um decréscimo da porcentagem de eliminação deste contaminante no biogás.
- Em valores de tempo de retenção hidráulica de 4,8 e 2,4 minutos de biogás no biofiltro percolador é possível observar uma maior estabilidade do sistema do que com tempo de residência de 1,6 minutos. Entretanto as médias da porcentagem de eliminação em cada uma destas condições foram próximas em torno de 80%.
- As medidas de biogás em diferentes alturas do biofiltro percolador mostraram que quase toda eliminação ocorre logo no início do reator, indicando que ele tem capacidade de tratar cargas muito maiores do que as fornecidas.
- Após estabilizado, o biofiltro percolador com material suporte alternativo foi capaz de realizar o tratamento do biogás da estação de tratamento de esgotos

de Matão, mesmo exposto a diversas condições e variações que uma estação real pode apresentar, mostrando que este sistema é robusto e pode ser utilizado para esta finalidade.

REFERENCIAS

ALMENGLO, F. et al. Operational conditions for start-up and nitrate-feeding in an anoxic biotrickling filtration process at pilot scale. **Chemical Engineering Journal**, v. 285, p. 83-91, Feb 1 2016. ISSN 1385-8947.

ARCHILHA, N. C. et al. Effect of feeding strategy and COD/sulfate ratio on the removal of sulfate in an AnSBBR with recirculation of the liquid phase. **Journal of Environmental Management**, v. 91, n. 8, p. 1756-1765, Aug 2010. ISSN 0301-4797.

ATSDR. **DRAFT TOXICOLOGICAL PROFILE FOR HYDROGEN SULFIDE AND CARBONYL SULFIDE**. SERVICES, U. S. D. O. H. A. H. Atlanta: Environmental Toxicology Branch. v. 6: 317 p. 2014.

BEHUM, P. T. et al. Remediation of coal-mine drainage by a sulfate-reducing bioreactor: A case study from the Illinois coal basin, USA. **Applied Geochemistry**, v. 26, p. S162-S166, Jun 2011. ISSN 0883-2927.

COLLERAN, E.; FINNEGAN, S.; LENS, P. ANAEROBIC TREATMENT OF SULFATE-CONTAINING WASTE STREAMS. **Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 67, n. 1, p. 29-46, 1995. ISSN 0003-6072.

DARBI, A. et al. Sulfate removal from water. **Water Quality Research Journal of Canada**, v. 38, n. 1, p. 169-182, 2003. ISSN 1201-3080.

ESCOBAR, C. et al. Hydrogen sulfide production from elemental sulfur by *Desulfovibrio desulfuricans* in an anaerobic bioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 98, n. 3, p. 569-577, Oct 2007. ISSN 0006-3592.

FERNANDEZ, M. et al. Biogas biodesulfurization in an anoxic biotrickling filter packed with open-pore polyurethane foam. **Journal of Hazardous Materials**, v. 264, p. 529-535, Jan 2014. ISSN 0304-3894.

SOLCIA, R. B. et al. Hydrogen sulphide removal from biogas by an anoxic biotrickling filter packed with Pall rings. **Chemical Engineering Journal**, v. 225, p. 456-463, Jun 1 2013. ISSN 1385-8947.

FIKE, D. A.; BRADLEY, A. S.; ROSE, C. V. Rethinking the Ancient Sulfur Cycle. In: JEANLOZ, R. e FREEMAN, K. H. (Ed.). **Annual Review of Earth and Planetary Sciences**, Vol 43. Palo Alto: Annual Reviews, v.43, 2015. p.593-622. (Annual Review of Earth and Planetary Sciences). ISBN 978-0-8243-2043-0.

FLORENTINO, A. P. et al. Sulfur Reduction in Acid Rock Drainage Environments. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 19, p. 11746-11755, Oct 2015. ISSN 0013-936X.

GALAVOTI, R. C. **Efeito das relações DQO/SO₄²⁻ e das variações progressivas da concentração de sulfato no desempenho de reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF)**. 2003. 265 (Tese de doutorado). Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos - SP.

GUERRERO, R. B. S.; BEVILAQUA, D. Biotrickling Filtration of Biogas Produced from the Wastewater Treatment Plant of a Brewery. **Journal of Environmental Engineering**, v. 141, n. 8, Aug 2015. ISSN 0733-9372.

GUPTA, A. et al. METHANOGENESIS AND SULFATE REDUCTION IN CHEMOSTATS .1. KINETIC-STUDIES AND EXPERIMENTS. **Water Research**, v. 28, n. 4, p. 781-793, Apr 1994. ISSN 0043-1354.

HAO, O. J. et al. Sulfate-reducing bacteria. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 155-187, 1996. ISSN 1064-3389.

HIDALGO, L. F. et al. Evaluation of Substrate Consumption Kinetics in Different Support Materials for Biotrickling Filters Aiming Biogas Desulfurization. **Solid State Phenomena**, v. 262, p. 682-686, 2017.

HUBERT, C. et al. Containment of biogenic sulfide production in continuous up-flow packed-bed bioreactors with nitrate or nitrite. **Biotechnology Progress**, v. 19, n. 2, p. 338-345, Mar-Apr 2003. ISSN 8756-7938.

KAKSONEN, A. H.; PUHAKKA, J. A. Sulfate reduction based bioprocesses for the treatment of acid mine drainage and the recovery of metals. **Engineering in Life Sciences**, v. 7, n. 6, p. 541-564, Dec 2007. ISSN 1618-0240.

KENNES, C.; RENE, E. R.; VEIGA, M. C. Bioprocesses for air pollution control. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 84, n. 10, p. 1419-1436, Oct 2009. ISSN 0268-2575.

LEFTICARIU, L. et al. Sulfate reducing bioreactor dependence on organic substrates for remediation of coal-generated acid mine drainage: Field experiments. **Applied Geochemistry**, v. 63, p. 70-82, Dec 2015. ISSN 0883-2927.

LENS, P. N. L. et al. Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 41-88, 1998. ISSN 1064-3389.

LOPEZ-ARCHILLA, A. I.; MARIN, I.; AMILS, R. Microbial community composition and ecology of an acidic aquatic environment: The Tinto River, Spain. **Microbial Ecology**, v. 41, n. 1, p. 20-35, Jan 2001. ISSN 0095-3628.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M. **Brock Biology of Microorganisms**. NJ Prentice Hall: Upper Saddle River: 75 p. 2006.

MONTEBELLO, A. M. et al. Aerobic desulfurization of biogas by acidic biotrickling filtration in a randomly packed reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 280, p. 200-208, Sep 2014. ISSN 0304-3894.

MOON, C. et al. Effect of COD: SO₄²⁻ Ratio, HRT and Linoleic Acid Concentration on Mesophilic Sulfate Reduction: Reactor Performance and Microbial Population Dynamics. **Water**, v. 7, n. 5, p. 2275-2292, May 2015. ISSN 2073-4441.

MUDLIAR, S. et al. Bioreactors for treatment of VOCs and odours - A review. **Journal of Environmental Management**, v. 91, n. 5, p. 1039-1054, May 2010. ISSN 0301-4797.

NANCUCHEO, I.; HEDRICH, S.; JOHNSON, D. B. New microbiological strategies that enable the selective recovery and recycling of metals from acid mine drainage and mine process waters. **Mineralogical Magazine**, v. 76, n. 7, p. 2683-2692, Dec 2012. ISSN 0026-461X.

NANCUCHEO, I.; JOHNSON, D. B. Removal of sulfate from extremely acidic mine waters using low pH sulfidogenic bioreactors. **Hydrometallurgy**, v. 150, p. 222-226, Dec 2014. ISSN 0304-386X. >.

NANCUCHEO, I. et al. Solid and liquid media for isolating and cultivating acidophilic and acid-tolerant sulfate-reducing bacteria. **Fems Microbiology Letters**, v. 363, n. 10, p. 6, May 2016. ISSN 0378-1097.

NEVATALO, L. M. et al. Biological hydrogen sulfide production in an ethanol-lactate fed fluidized-bed bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. 276-284, Jan 2010. ISSN 0960-8524.

POURZOLFAGHAR, H. et al. Review of H₂S sorbents at low-temperature desulfurization of biogas. v. 5, n. 1, p. 22-28, 2014.

RAMIREZ, M. et al. Biofiltration of reduced sulphur compounds and community analysis of sulphur-oxidizing bacteria. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 5, p. 4047-4053, Mar 2011. ISSN 0960-8524.

RYCKEBOSCH, E.; DROUILLON, M.; VERUAEREN, H. Techniques for transformation of biogas to biomethane. **Biomass & Bioenergy**, v. 35, n. 5, p. 1633-1645, May 2011. ISSN 0961-9534.

SARTI, A. et al. SULFATE REMOVAL FROM INDUSTRIAL WASTEWATERS IN FIXED FILM ANAEROBIC SEQUENTIAL BATCH REACTOR. **Engenharia Sanitaria E Ambiental**, v. 13, n. 1, p. 15-22, Jan-Mar 2008. ISSN 1413-4152.

SARTI, A. et al. Microbial processes and bacterial populations associated to anaerobic treatment of sulfate-rich wastewater. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 2, p. 164-170, Feb 2010. ISSN 1359-5113.

SARTI, A. et al. The treatment of sulfate-rich wastewater using an anaerobic sequencing batch biofilm pilot-scale reactor. **Desalination**, v. 249, n. 1, p. 241-246, Nov 30 2009. ISSN 0011-9164. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000271955400039 >.

SARTI, A.; ZAIAT, M. Anaerobic treatment of sulfate-rich wastewater in an anaerobic sequential batch reactor (AnSBR) using butanol as the carbon source. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 6, p. 1537-1541, Jun 2011. ISSN 0301-4797.

SILVA, A. J. et al. Sulphate removal from industrial wastewater using a packed-bed anaerobic reactor. **Process Biochemistry**, v. 37, n. 9, p. 927-935, Apr 2002. ISSN 1359-5113.

VELASCO, A. et al. Evaluation of feed COD/sulfate ratio as a control criterion for the biological hydrogen sulfide production and lead precipitation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 151, n. 2-3, p. 407-413, Mar 2008. ISSN 0304-3894.

ZIEMINSKI, K.; KOPYCKI, W. J. Impact of Different Packing Materials on Hydrogen Sulfide Biooxidation in Biofilters Installed in the Industrial Environment. **Energy & Fuels**, v. 30, n. 11, p. 9386-9395, Nov 2016. ISSN 0887-0624.