

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
ENGENHARIA AMBIENTAL

DEGRADAÇÃO DE ALQUILBENZENO LINEAR
SULFONADO EM REATOR OPERADO EM BATELADAS
SEQÜENCIAIS SOB CONDIÇÕES DESNITRIFICANTES

Aluno: Maurício da Silva Mayor
Orientadora: Profa. Dra. Maria Bernadete A. Varesche Silva

Monografia apresentada ao curso de
graduação em Engenharia Ambiental da
Escola de Engenharia de São Carlos da
Universidade de São Paulo.

São Carlos, SP

2008

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

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

M473d Mayor, Mauricio da Silva
Degradação de alquilbenzeno linear sulfonado em reator operado em bateladas seqüenciais sob condições desnitrificantes / Mauricio da Silva Mayor ; orientadora Maria Bernadete A. Varesche Silva. -- São Carlos, 2008.

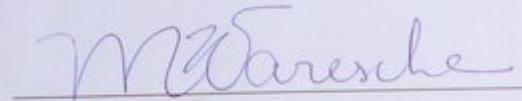
Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) --
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade
de São Paulo, 2008.

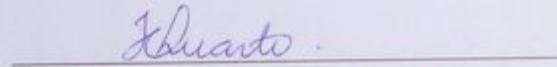
1. Degradação. 2. LAS. 3. Nitrato. 4. ASBR.
5. Adsorção. I. Título.

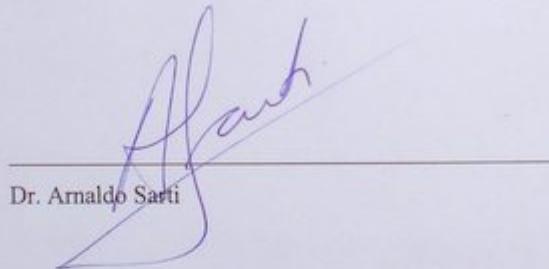
FOLHA DE APROVAÇÃO

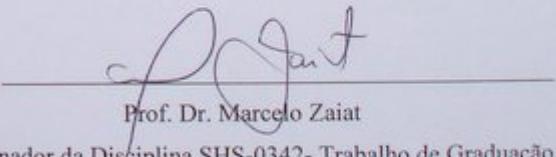
Candidato: Mauricio da Silva Mayor

Monografia defendida e aprovada em: 05 de dezembro de 2008 pela Comissão Julgadora:


Profa. Dra. Maria Bernadete A. Varesche


Profa. Dra. Iolanda Cristina Silveira Duarte


Dr. Arnaldo Sarti


Prof. Dr. Marcelo Zaiat
Coordenador da Disciplina SHS-0342- Trabalho de Graduação

Dedico este trabalho aos meus pais com todo amor por grande confiança e carinho depositados em mim, e dedico também, ao meu irmão pelo fundamental companheirismo.

AGRADECIMENTOS

A Deus agradeço, pelas maravilhosas oportunidades de minha vida.

À Profa. Dra. Bernadete A. Varesche, pela oportunidade de crescimento profissional, confiança depositada e orientação indispensáveis para a execução deste trabalho.

À Profa. Dra. Iolanda C. Silveira Duarte, por me apresentar o mundo da pesquisa com entusiasmo, pelo auxílio fundamental na elaboração desta pesquisa e pela amizade contruída.

À doutoranda Lorena O. Pires, pelo grande apoio nos diversos cálculos realizados durante a parte experimental deste trabalho.

À Dra. Júlia Sumiko Hirasawa e Maria Ângela T. Adorno (Janja) pela imprescindível ajuda nas análises de cromatografia.

Ao companheiro de Iniciação Científica e, agora mestrando, Dagoberto Yukio Okada, pelo importante auxílio para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Dra. Renata Médici F. Cuba , pelo valioso ensinamento nas análises realizadas.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Processos Biológicos, em especial, aos professores Marcelo Zaiat e Eugênio Foresti, a Eloísa Pozzi Gianotti e Carolina Zampol Lazaro, pelas microscopias ópticas realizada, à Katita, pelo auxílio na utilização dos equipamentos da sala de Microbiologia, ao Thiago, Theo e Bruna, pela ajuda nas análises de FIA (Flow Injection Analysis), aos amigos de iniciação científica Amanda e Rachel e aos demais colegas de laboratório Sandra, Dani, Isabel, Guilherme, Ana Flávia, Renata, Arnaldo e Márcia.

Ao Banco Santander, pela bolsa de iniciação científica concedida e ao financiamento do Projeto Temático FAPESP.

A todos os amigos de graduação em Engenharia Ambiental da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP), em especial ao Matheus e Diogo, companheiros de república e de grandes momentos que serão sempre lembrados com prazer.

Aos meus pais, José e Neiva, e meu irmão Matheus, pelo fundamental apoio e incentivo.

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	4
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 Alquilbenzeno Linear Sulfonado.....	5
3.2 LAS no ambiente	7
3.3 Degradção biológica de LAS.....	9
3.4 Reator anóxico operado em bateladas seqüenciais.....	11
3.5 Condição desnitrificante	14
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
4.1 Descrição geral	17
4.2 Ensaio Hidrodinâmico.....	18
4.3 LAS	19
4.4 Descrição do ASBR.....	19
4.5 Inóculo	21
4.6 Operação do ASBR.....	21
4.7 Análises físico-químicas e cromatográficas.....	23
4.8 Exames microscópicos.....	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1 Determinação do tempo de mistura	25
5.2 Inóculo	27
5.3 Determinação do tempo de sedimentação	27
5.4 Monitoramento do ASBR	28
5.5 Microscopia óptica.....	37
6 CONCLUSÕES	40
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXO A – Análises de Monitoramento.....	48

RESUMO

MAYOR, M. S. Degradação de alquilbenzeno linear sulfonado em reator operado em bateadas seqüenciais sob condições desnitrificantes. Monografia. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008. 60 p.

Alquilbenzeno linear sulfonado (LAS) é o surfactante aniónico mais utilizado na formulação de detergentes e outros produtos de limpeza. Pode estar presente em significativas concentrações no esgoto sanitário, podendo chegar até corpos d'água e causar danos aos ecossistemas. O sistema de tratamento utilizado no presente estudo foi um reator, em escala laboratorial, operado em bateladas seqüenciais (ASBR) com biomassa granulada. O ASBR foi inoculado com lodo proveniente de reator UASB utilizado no tratamento de resíduos de suinocultura e alimentado com substrato sintético acrescido de nitrato de sódio (NaNO_3), com ciclos de operação de 24 horas incluindo as fases de enchimento, reação e descarte. Foram realizadas as seguintes etapas de alimentação do ASBR: etapa I sem adição de LAS e com $191,5 \pm 15,1$ mg N- NO_3 /L, etapa II com $5,7 \pm 2,6$ mg LAS/L e $153,5 \pm 41,0$ mg N- NO_3 /L, etapa III com $41,2 \pm 22,4$ mg LAS/L e $198,8 \pm 42,1$ mg N- NO_3 /L e etapa IV com $39,2 \pm 16,1$ mg LAS/L e $107,9 \pm 129,3$ mg N- NO_3 /L. Nas etapas I, II e III foi adicionado etanol e os valores em termos de DQO foram $743,1 \pm 235,1$ mg/L, $630,6 \pm 86,9$ mg/L e $693,9 \pm 66,6$ mg/L, respectivamente. A etapa I foi o período de adaptação do reator sob condições desnitrificantes, sendo que, a remoção média de N- NO_3^- foi de $97,2 \pm 5,3\%$. Durante a etapa II a remoção média de N- NO_3^- foi $92,7 \pm 12,2\%$ e, após 98 dias de operação, o ASBR apresentou 27,4 % de degradação de LAS. Na etapa III, a remoção média de N- NO_3^- foi $84,2 \pm 16,4\%$ e, após 135 dias de operação, 35,3 % de LAS foi degradado. Na etapa IV, onde somente havia LAS como fonte de carbono e energia a remoção média de N- NO_3^- foi de $11,2 \pm 8,7\%$ e, ao final dessa etapa com 181 dias de operação, 48,3 % de LAS foi degradado. Dessa maneira, após o final de operação do ASBR, verificou-se que foram adicionados 17,1 g de LAS sendo recuperados 8,6 g de LAS no efluente e, somente 0,1 g de LAS foi adsorvido no lodo. Após essas etapas de operação, houve a digestão do lodo por 29 dias e a massa de LAS adsorvida foi degradada em 61,5 %.

Palavras-chave: LAS, nitrato, ASBR, degradação, adsorção

ABSTRACT

MAYOR, M. S. **Degradation of linear alkylbenzene sulfonate in anoxic sequencing batch reactor under denitrifying conditions.** Monograph. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008. 60 p.

Linear alkylbenzene sulfonate (LAS) is the most widely used anionic surfactant for synthetic detergent and other cleaners. Commonly found in expressive concentrations in domestic wastewater, can affect rivers and can impacts the ecosystems. In the present study, the treatment system was a laboratory-scale anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) with granular biomass. The reactor was inoculated with anaerobic sludge from a UASB reactor treating swine culture wastes and sodium nitrate was added to the synthetic substrate. The 24 hours operating cycles included the steps of feed, reaction, settling and liquid withdrawal. The following steps of feeding the ASBR were as follows: stage I without addition of LAS and 191.5 ± 15.1 mg N-NO₃/L, stage II with 5.7 ± 2.6 mg LAS/L and 153.5 ± 41.0 mg N-NO₃/L, stage III with 41.2 ± 22.4 mg LAS/L and 198.8 ± 42.1 mg N-NO₃/L and stage IV with 39.2 ± 16.1 mg LAS/L and 107.9 ± 129.3 mg N-NO₃/L. In stages I, II and III was added ethanol and the values in terms of COD were 743.1 ± 235.1 mg/L, 630.6 ± 86.9 mg/L and 693.9 ± 66.6 mg/L, respectively. The stage I was the adjustment period of the reactor under denitrifying conditions, where the average removal of N-NO₃ was $97.2 \pm 5.3\%$. During stage II, the average removal of N-NO₃ was $92.7 \pm 12.2\%$ and after 98 days of operation, the ASBR showed 27.4% degradation of LAS. In stage III, the average removal of N-NO₃ was $84.2 \pm 16.4\%$ and after 135 days of operation, 35.3% of LAS was degraded. In stage IV, which only existed LAS as carbon and energy source the average removal of N-NO₃ was $11.2 \pm 8.7\%$ and at the end of this phase with 181 days of operation, 48.3% of LAS was degraded. Thus, after the end of operation of the ASBR, it was found that were added 17.1 g of LAS, were recovered 8.6 g of LAS in the effluent, and only 0.1 g of LAS was adsorbed in to the biomass. After theses stages of operation, there was a digestion of the sludge for 29 days and the mass of adsorbed LAS was degraded by 61.5%.

Key-words: LAS, nitrate, ASBR, degradation, absorption

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Consumo mundial de surfactantes por região	5
Figura 3.2 – Consumo mundial de surfactantes por uso.....	6
Figura 3.3 - Fórmula estrutural do alquilbenzeno linear sulfonado	7
Figura 3.4 – Reações de desnitrificação	14
Figura 4.1 – Reator anóxico operado em bateladas seqüenciais com biomassa granulada.....	18
Figura4.2– Esquema do reator anóxico operado em bateladas seqüenciais:	20
Figura 5.1 – Resultado do ensaio hidrodinâmico de estímulo/resposta: (a) 50 rpm; (b) 75 rpm; (c) 100 rpm; (d) 125 rpm; (e) 150 rpm e (f) 175 rpm.....	26
Figura 5.2 – Variação temporal de DQO filtrada afluente e efluente e eficiência de remoção ao longo da operação do reator ASBR	28
Figura 5.3 – Variação temporal de concentração de nitrato afluente e efluente e eficiência de remoção ao longo da operação do reator ASBR.....	29
Figura 5.4 – Variação temporal de nitrito efluente.....	31
Figura 5.5 – Massa de LAS acumulada e removida	32
Figura 5.6–Variação temporal de sólidos totais e massa de LAS adsorvido no reator ASBR .	33
Figura 5.7 – Variação temporal de alcalinidade total afluente e efluente	35
Figura 5.8 – Variação temporal da alcalinidade parcial afluente e efluente.....	35
Figura 5.9 – Variação temporal de pH afluente e efluente	36
Figura 5.10 – Variação temporal de ácidos voláteis totais afluente e efluente	37
Figura 5.11 – Microscopia óptica de contraste de fase de morfologias microbianas presentes no inóculo: (a) bacilos, (b) bacilos, bacilos em cadeia e filamentos.	38
Figura 5.12 – Microscopia óptica de contraste de fase de morfologias microbianas presentes na etapa I do reator ASBR, adaptação ao meio desnitrificante: presença predominantemente de bacilos.....	38
Figura 5.13 – Microscopia óptica de contraste de fase de morfologias microbianas presentes na etapa II do reator ASBR, primeira etapa com LAS: presença predominantemente de bacilos	39
Figura 5.14 - Microscopia óptica de contraste de fase de morfologias microbianas presentes na etapa III do reator ASBR, aumento da concentração de LAS: (a) bacilos, (b) cocos	39
Figura 5.15 - Microscopia óptica de contraste de fase de morfologias microbianas presentes na etapa IV do reator ASBR, somente LAS: (a) bacilo e cocobacilos, (b) cocos	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Utilização de reatores em bateladas seqüenciais com lodo granulado	12
Tabela 4.1- Etapas de operação do ASBR utilizado no tratamento de LAS	21
Tabela 4.2 - Composição da água residuária sintética.....	22
Tabela 4.3 - Composição da solução estoque de sais	22
Tabela 4.4 – Análises de monitoramento do reator	23
Tabela A.1 – Valores de monitoramento de pH, alcalinidade parcial, alcalinidade total e ácidos voláteis totais do ASBR	48
Tabela A.2 – Monitoramento de DQO do ASBR.....	49
Tabela A.3 – Monitoramento de N-NO ₃ do ASBR analisado por espectrofotometria em ultravioleta	50
Tabela A.4 – Monitoramento de N-NO ₃ e N-NO ₂ do ASBR analisado por FIA	51
Tabela A.5 – Monitoramento de LAS do ASBR.....	52
Tabela A.6 – Valores de LAS acumulado e eficiência de remoção	53
Tabela A.7 – Massa de LAS adsorvida nas amostras de lodo do ASBR	55
Tabela A.8 – Valores de LAS acumulado e eficiência de degradação	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVT	Ácidos voláteis totais
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CMC	Concentração micelar crítica
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DBP	Di- <i>n</i> -butil ftalato
DQO	Demanda química de oxigênio
EESC	Escola de Engenharia de São Carlos
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
FIA	Flow Injection Analysis
LAS	Linear alkybenzene sulfonate (alquilbenzeno linear sulfonado)
H₂SO₄	Ácido sulfúrico
pH	Potencial Hidrogeniônico
NaNO₃	Nitrato de sódio
NPEOs	Nonilfenol polietoxilatos
RAHLF	Reator anaeróbio horizontal de leito fixo
SPC	Sulfofenil carboxilato
SST	Sólidos suspensos totais
ST	Sólidos totais
STV	Sólidos totais voláteis
UASB	Upflow anaerobic sludge blanket (reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo)
USP	Universidade de São Paulo
UNESP	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

1 INTRODUÇÃO

A poluição causada pela ação antrópica representa significativo impacto nos ecossistemas aquáticos diretamente afetados e nos meios dependentes dos recursos hídricos. Dentre os agentes poluidores mais utilizados pelo homem, que contribuem com a deterioração dos ecossistemas aquáticos, destacam-se os compostos tensoativos que compõem a formulação dos detergentes.

Alquilbenzeno linear sulfonado (LAS, sigla em inglês) é o tensoativo aniônico mais utilizado mundialmente, de acordo com Scott e Jones (2000). É empregado na produção de detergentes e outros produtos de limpeza de uso doméstico e industrial. O LAS foi introduzido, em 1965, como alternativo ao não-biodegradável sulfonato de alquil benzeno (ABS, sigla em inglês) (HUANG *et al.*, 2000). O consumo estimado de LAS, segundo Sanz *et al.* (2003), no ano 2000 foi por volta de 2,5 milhões de toneladas.

A molécula do LAS comprehende um anel aromático sulfonado ligado a uma cadeia alquílica de 10 a 14 carbonos (SANZ *et al.*, 2003). Dessa forma, apresenta um grupo hidrofóbico (cadeia de hidrocarbonetos) e um hidrofílico (anel aromático sulfonado). Sendo que este pode estar ligado no C₂ ao C₁₃ da cadeia alquílica e, assim, o LAS é representado por diferentes isômeros e homólogos.

Os surfactantes apresentam risco potencial ao ambiente quando atingem corpos d'água por meio de efluentes domésticos e industriais. Ao passar por estações de tratamento de efluentes, nem sempre são totalmente degradados, oferecendo ainda, sérios danos aos ecossistemas aquáticos. Os principais impactos causados pelo LAS são: formação de espumas e, conseqüente, inibição dos processos de autodepuração dos cursos d'água e disseminação de impurezas, danificação das membranas celulares e desnaturação de enzimas.

O LAS possui alta capacidade de adsorver-se em lodos de sistemas de tratamento de esgoto e em sedimentos de rios e mares. Painter¹ (Apud BRANDT, 2004), afirmou que em águas residuárias não tratadas a concentração de LAS variou de 2 a 20 mg/L, enquanto que, em efluente tratado a concentração foi abaixo de 1 mg/L. Entretanto, a concentração de LAS nos lodos biológicos varia de 5 a 15 g/kg (SANZ *et al.*, 2000). Logo, é de extrema importância avaliar a adsorção do LAS, pois somente assim, é possível verificar a degradação desta molécula.

O reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB – *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) é o mais utilizado mundialmente nos estudos da degradação do LAS (ALMENDARIZ *et. al.* 2001; LØBNER *et al.*, 2005; MONGENSEN e AHRING, 2002; SANZ *et al.*, 2003).

No presente trabalho avaliou-se a biodegradação do alquilbenzeno linear sulfonado em um reator operado em bateladas seqüenciais sob condições desnitrificantes. A nova configuração foi muito interessante, pois possuiu boa retenção de biomassa, controle operacional eficiente e facilidade de instrumentação.

A condição desnitrificante escolhida para o trabalho foi induzida pela adição de nitrato de sódio (NaNO_3), tendo em vista estudos que utilizaram tal condição, como fator favorável à degradação de compostos poluentes, devido à utilização do nitrato (NO_3^-) como acceptor final de elétrons. Almendariz *et al.* (2001) estudou a degradação do LAS por *Pseudomonas aeruginosa*, que são bactérias desnitrificantes.

No Brasil, estudos recentes têm comprovado a degradação de LAS em reatores anaeróbios. Duarte (2006) utilizou reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) e obteve 38% de degradação de LAS. Em outro estudo, Duarte *et al.* (2007) utilizaram reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais (ASBR) e obtiveram 53% de degradação de LAS. Oliveira

¹ PAINTER, H. A. (1992) Anionic surfactants. In: Detergents (de Oude, N. T., Ed.). Springer, Berlim.

(2006) pesquisou a degradação do surfactante em RAHLF e obteve 35% de degradação desse surfactante.

Assim, o presente trabalho foi proposto para complementar os estudos que, investigam a degradação do alquilbenzeno linear sulfonado em reatores anaeróbios. O diferencial do projeto é o estudo da biodegradação do LAS em reator operados em bateladas seqüenciais (ASBR) sob condições desnitrificantes.

2 OBJETIVOS

O objetivo principal desta pesquisa foi avaliar a eficiência de degradação do surfactante alquilbenzeno linear sulfonado em reator operado em bateladas seqüenciais na presença de nitrato.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Alquilbenzeno Linear Sulfonado

O alquilbenzeno linear sulfonado constitui o surfactante aniónico mais utilizado mundialmente, principalmente, na formulação de detergente (GAVALA e AHRING, 2002). De acordo com Cavalli (2004), cerca de 60% dos surfactantes, excluindo sabão, são consumidos nos países desenvolvidos da Europa, América do Norte, e Japão (Figura 3.1), e mais de 50% são de uso doméstico (Figuras 3.2).

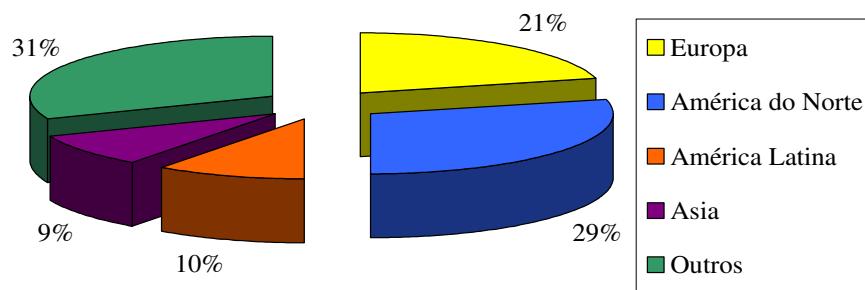


Figura 3.1 – Consumo mundial de surfactantes por região
Fonte: Adaptado de Cavalli (2004)

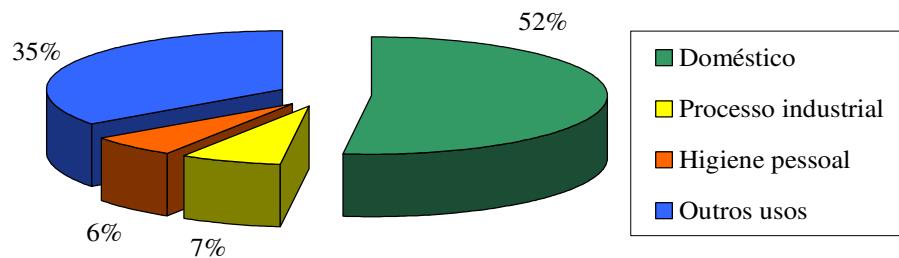


Figura 3.2 – Consumo mundial de surfactantes por uso
Fonte: Adaptado de Cavalli (2004)

Sua propriedade de agente tensoativo é devido à presença de um grupo hidrofílico, sulfito de sódio, e outro hidrofóbico, cadeia alquílica unida ao anel aromático (LØBNER *et al.*, 2005).

Um fenômeno característico dos surfactantes em solução aquosa é a agregação de suas moléculas em extensos e orientados grupos chamados micelas. Com o aumento da concentração de surfactantes formam-se dímeros, trímeros, tetrâmeros, até que em determinada concentração, micelas são formadas. Esta concentração limite é denominada de concentração micelar crítica (CMC). As micelas em soluções aquosas apresentam suas moléculas orientadas com sua parte hidrofóbica agrupada voltada para o centro e a porção hidrofílica estende-se para o exterior da micela. Dependendo de alguns fatores como a natureza química e arquitetura do surfactante, a concentração de sais da solução e a temperatura, as micelas podem ser esféricas, elipsóides ou cilíndricas. A CMC pode ser em torno de 1000 ppm (SWISHER, 1987).

A molécula do LAS compreende uma mistura de homólogos e isômeros. Segundo Sanz *et al.* (2003) a cadeia alquílica pode apresentar de 10 a 14 carbonos e o anel aromático

sulfonado na posição *para* está ligado na cadeia alquílica, como pode ser observado na Figura 3.3.

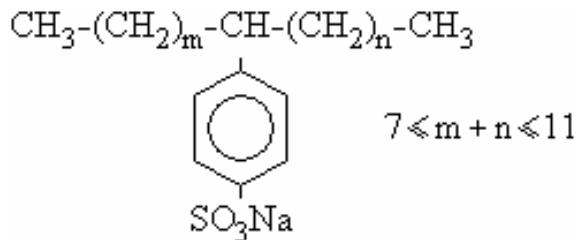


Figura 3.3 - Fórmula estrutural do alquilbenzeno linear sulfonado

Fonte: Adaptado de Sanz *et al.* (2003)

Ainda, segundo Sanz *et al.* (2003), o LAS pode chegar ao ambiente como componente de efluentes de esgoto não tratado ou efluente de sistema de tratamento de esgoto. Nesse estudo consta que a completa mineralização do LAS em ambiente natural anaeróbio ainda não foi descrita.

3.2 LAS no ambiente

No Brasil, a Resolução n.º 357 de 17 de Março de 2005 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, define como sendo 0,5 mg LAS/L a concentração máxima de surfactante permitida para as águas doce de classe 1, 2 e 3. Além disso, essa resolução define que espumas não naturais devem estar virtualmente ausentes para todas as classes de água doce.

Scholz (1998) pesquisou sobre a ecotoxicologia de surfactantes em três diferentes organismos: *Oncorhynchus mykiss* (peixe), *Daphnia magna* (zooplâncton) e *Scenedesmus*

subspicatus (alga). Análises com LAS sobre a concentração letal ou efeitos em 50% dos organismos testados demonstrou valores entre 6 e 20 mg/L para as três espécies avaliadas. Segundo o pesquisador, a espécie de peixe foi a mais suscetível aos efeitos do LAS, em segundo a *Daphnia*.

Os surfactantes aniônicos podem interagir com componentes da célula. De acordo com Cserháti *et al.* (2002), esse tipo de surfactante pode ligar-se a proteínas e alterar o formato da cadeia polipeptídica e, por conseguinte, alterar a carga superficial da molécula. Essas modificações podem liderar danos nas funções biológicas, como a perda de funções enzimáticas e da membrana fosfolipídica, provocando sintomas tóxicos nos organismos.

Ademais, outro impacto ambiental é a formação de espumas em cursos d'água associado à presença de surfactantes. Segundo Hatamura² (Apud Duarte, 2006), a espuma pode apresentar elevados níveis de metais pesados. Analisando as espumas formadas no rio Tietê, foram encontradas concentrações de metais acima de 20 a 188 vezes aos valores observados na água.

Ambientes costeiros também recebem grande quantidade de surfactantes. González-Mazo (1996) realizaram estudos na Baía de Cádiz (Sudoeste da Espanha) e obtiveram gradiente vertical da concentração de LAS, cujos máximos valores 3,7 e 0,4 mg/L foram obtidas na camada superficial. Outro estudo, também na Baía de Cádiz, avaliou a concentração de surfactantes no sedimento de ambientes costeiros. Nesse caso, os maiores valores encontrados para a concentração de LAS foram de 67,6 e 3,6 µg/g em dois pontos amostrais distintos (Lara-Martín *et al.*, 2006).

Cavalli *et al.* (2000) investigaram a concentração de LAS nos sedimentos do rio Pó, o maior rio italiano. Esse rio drena a maior parte do norte do país e percorre extensão de 645 km da porção leste do território até o Mar Adriático. Amostras do sedimento foram retiradas de

² HATAMURA, E.; EYSINK, G.J.; BEVILACQUA, J.E.; MORAES, R.P. (1993) Enriquecimento das espumas por substâncias químicas como agente de exportação de poluentes no Rio Tietê; Relatório Técnico; CETESB.

10 pontos ao longo de todo o percurso do rio Pó. Os resultados demonstraram variação da concentração de LAS no sedimento de 0,5 a 4,7 mg/kg.

3.3 Degradação biológica de LAS

Swisher (1987) define a biodegradação como sendo a destruição de compostos químicos por ação biológica de organismos vivos. Neste contexto, os microrganismos mais importantes são as bactérias, pois são capazes de utilizar como fonte de alimento uma infinidade de compostos químicos. Bactérias podem viver e propagar-se facilmente mesmo na presença de poluentes como gasolina, benzeno, fenol e outros compostos considerados tóxicos.

De acordo com Swisher (1987), a degradação primária de surfactantes pode ocorrer pela oxidação ou outro processo promovido pela ação bacteriana quando suas propriedades características não são mais evidentes ou não há respostas aos processos analíticos específicos para determinar o surfactante original. Ademais, o autor destaca que a máxima degradação de surfactantes ocorre quando há a completa conversão do composto em dióxido de carbono, água, sais inorgânicos e produtos associados com processos biológicos.

A possibilidade de biodegradação anaeróbia do LAS foi comprovada por Mongensen e Ahring (2002). A degradação do surfactante foi estudada sob condição anaeróbia termofílica (55°C) em reator UASB inoculado com lodo granulado. Segundo os autores, os resultados evidenciaram a ocorrência da decomposição do LAS pelos microrganismos.

A concentração de LAS em cursos d'água foi estudada por Eichhorn *et al.* (2002) no rio Macacu, localizado no estado do Rio de Janeiro. Os valores para o surfactante foram de 12 a 155 µg/L. Moreno *et al.* (1994) afirmaram que a concentração comum para o LAS em águas superficiais é por volta de 30 µg/L.

Apesar da concentração de LAS nas águas superficiais não ser alta, no esgoto sanitário da Espanha, ela variou entre 9,4 e 21,0 mg/L (BERNA *et al.*, 1989). No Brasil, segundo dados da CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental), os esgotos sanitários contêm de 3 a 6 mg/L de detergente. De acordo com Berna *et al.* (1989), o LAS é removido nos sistemas de tratamento por biodegradação e adsorção no lodo. Na Europa, grande parte do lodo é aplicada na agricultura e, assim, o LAS é lançado ao solo (LØBNER *et al.*, 2005).

As etapas da degradação anaeróbia do LAS e seus intermediários ainda não foram totalmente esclarecidos. O sulfofenil carboxilato (SPC, sigla em inglês) é um metabólito do LAS encontrado em águas superficiais (EICHHORN *et al.*, 2002), estações de tratamento de esgoto (MORENO *et al.*, 1994) e ambientes costeiros (GONZÁLEZ-MAZO *et al.*, 1996; LARA-MARTÍN *et al.*, 2006). Mongensen e Ahring (2002) observaram que o primeiro passo para degradar o LAS é o ataque microbiano à cadeia alquílica. Segundo esses autores, os metabólitos formados na degradação anaeróbia foram ácido benzenossulfônico e benzaldeído.

De acordo com Sanz *et al.* (2003), o alquilbenzeno linear sulfonado foi utilizado como fonte de carbono e energia por bactérias anaeróbias em seu estudo com UASB. Almendariz *et al.* (2001) analisaram a degradação do LAS em sistema anaeróbio utilizando uma cepa de *Pseudomonas aeruginosa*. Khleifal (2006) estudou duas bactérias anaeróbias facultativas (*Pantoea agglomerans* e *Serratia adorifera*) na degradação do LAS. Esse autor verificou que o consórcio microbiano apresentou melhor desempenho em relação às células isoladas.

Alguns autores afirmam que a atividade metanogênica é inibida pela presença do LAS (Almendariz *et al.*, 2001; Garcia-Morales *et al.*, 2001). Garcia-Morales *et al.* (2001) destacaram que as arquéias metanogênicas são, em geral, mais sensíveis às mudanças ambientais do que as bactérias acidogênicas. Porém, Sanz *et al.* (2003) observaram que a presença do surfactante nas concentrações utilizadas (4 a 5 mg LAS/L) não inibiram a metanogênese.

A avaliação da degradação de LAS em meio desnitrificante, juntamente com a análise da diversidade morfológica dos microrganismos, contribuiu com informações sobre possibilidades alternativas de utilização de tal composto.

3.4 Reator anóxico operado em bateladas seqüenciais

O tratamento de águas residuárias no reator em bateladas seqüenciais é feito em um tanque único. Segundo Zaiat et al. (2001), esse reator possui algumas vantagens, tais como, maior controle da qualidade efluente, pois a saída deste pode ser feita somente quando o padrão de emissão for atingido, e a baixa concentração de substrato no final do ciclo de operação permite eficiente separação do lodo.

Nesse contexto, a utilização do reator em bateladas seqüenciais, que apresenta uma rotina operacional mais simples, foi utilizado nesse trabalho visando avaliar a degradação do linear alquilbenzeno sulfonado sob condições anóxicas.

O reator anaeróbio mais utilizado nos estudos da degradação do alquilbenzeno linear sulfonado é o UASB (ALMENDARIZ *et al.*, 2001; MONGENSEN e AHRING, 2002; SANZ *et al.*, 2003; LØBNER *et al.*, 2005). Sanz *et al.* (2003) fizeram uso do reator UASB a $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ com adição de 4 a 5 mg LAS/L na presença e ausência de co-substratos, sendo que nesta última condição, foi removido 85% do LAS adicionado. Almendariz *et al.* (2001) utilizaram UASB compartimentado (acidogênico/ metanogênico) a 35°C na avaliação da degradação de LAS, nas concentrações de 20 e 50 mg LAS/L, e obtiveram eficiência de 41% no reator acidogênico.

Outros reatores anaeróbios também foram empregados na investigação da degradação anaeróbia de LAS. Duarte (2006) obteve 34% de eficiência de degradação de LAS em reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF), após 313 dias de operação, com concentração afluente de 14 mg LAS/L.

O reator anaeróbio operado em bateladas seqüenciais (ASBR, sigla em inglês) tem sido utilizado nos últimos anos no tratamento de águas residuárias (Tabela 3.1) como alternativa aos sistemas contínuos devido a melhor retenção da massa biológica e maior controle do processo. A operação do ASBR consiste em quatro passos: alimentação, reação, sedimentação e descarte do efluente.

Tabela 3.1 - Utilização de reatores em bateladas seqüenciais com lodo granulado

Alimentação	Volume do reator (L)	Inóculo	Tempo do ciclo	Remoção (%)	Referência
BTEX	6,5	Lodo UASB Avicultura	24 h	Benzeno 67,3 Tolueno 82,9 Etilbenzeno 55,6 Xileno 47,5	SOUZA <i>et al.</i> (2005)
Formaldeído	5	Lodo UASB Avicultura	8 h	> 90 (formaldeído)	PEREIRA <i>et al</i> (2006)
Resíduos de suino cultura	5,5	Lodo UASB Avicultura e Suino cultura	24 h	70 (DQO)	PINHO <i>et al.</i> (2003)
Esgoto sintético	5	Lodo UASB Avicultura	8 h	90 (DQO)	MOCKAITiS <i>et al.</i> (2006)
Efluente de cervejaria	30	—	7 dias	80 a 89 (DQO)	ZUPANCIC <i>et al.</i> (2006)
Fenol	1,65	Lodo de unidade de tratamento de forno de coque	6 h	94 (fenol)	SARFARAZ <i>et al</i> (2004)

Segundo Zaiat *et al.* (2001), o desenvolvimento de reatores anaeróbios descontínuos para o tratamento de águas residuárias pode ser empregado para os seguintes casos: indústrias que lançam efluentes de forma intermitente e que trabalham com padrões de lançamento muito restritivos ou com compostos de difícil degradação, neste caso, a qualidade do efluente

pode ser controlada lançando-o no curso d'água somente quando os padrões forem atingidos; em sistemas que têm por fim o reuso de águas residuárias ou de substâncias nelas dissolvidas; em estudos que visem a elucidação de alguns fenômenos da degradação anaeróbia, devido a facilidade de instrumentação e controle.

O ASBR convencional pode ser operado com biomassa suspensa ou granulada, sendo que essa última apresenta melhor aplicação. O crescimento dos microrganismos em grânulos favorece alta retenção celular no reator, dessa forma, melhora a separação da fase sólida da líquida. Além disso, a mistura mecânica da biomassa com a fase líquida é essencial, pois a movimentação no interior do reator promove aumento do contato entre os microrganismos e substrato (Zaiat *et al.*, 2001).

Ginige *et al.* (2004) estudaram consócio microbiano desnitrificante em reator de batelada seqüencial. O reator, apresentava 1,8 L de volume útil e agitação de 200 rpm, foi operado em condições anóxicas tendo como fonte única de carbono o metanol e como acceptor de elétrons o nitrato. Depois de seis meses operacionais com desnitrificação consistente, a comunidade microbiológica foi analisada com o auxílio de análise do RNAr 16S. Os microrganismos apresentaram semelhança com β Proteobactérias.

Sarfaraz *et al.* (2004) avaliaram a remoção de fenol utilizando lodo granulado sob condições desnitrificante em reator em batelada seqüencial com diferentes tempos de ciclo operacional e concentrações afluentes de fenol de 550 a 1150 mg/L. O reator de 1,65 L de volume útil a 30 ± 2 °C com mistura da biomassa por recirculação de gás atingiu 94% de eficiência de remoção de fenol.

Por conseguinte, a utilização do ASBR em condições desnitrificantes para tratar efluente contendo LAS é alternativa inovadora para obter a degradação deste surfactante. Este estudo possibilitou investigar parâmetros a fim de aperfeiçoar a degradação do surfactante e conhecer a diversidade morfológica dos microrganismos envolvidos no tratamento de LAS.

3.5 Condição desnitrificante

A biodegradação anaeróbia é um processo múltiplo desempenhado por diferentes grupos de bactérias. Esse processo envolve hidrólise de substâncias complexas como proteínas ou carboidratos a monômeros e, subsequente, decomposição em ácidos solúveis, alcoóis, hidrogênio molecular (H_2), e dióxido de carbono (CO_2). Dependendo das condições ambientais existentes, as etapas finais da biodegradação anaeróbia são realizadas por bactérias desnitrificantes, redutoras de sulfato ou metanogênicas (BERNA *et al.*, 1999).

De acordo com Knowles (1982), o processo de desnitrificação refere-se à redução desassimilativa, realizado por bactérias, de um ou ambos os íons de óxido de nitrogênio (nitrato, NO_3^- , e nitrito, NO_2^-) a óxido nítrico (NO) e óxido nitroso (N_2O), que por sua vez são, mais adiante, reduzidos a nitrogênio gasoso (N_2). Os íons óxidos de nitrogênio atuam como receptores finais de elétrons na ausência de oxigênio. O nitrogênio gasoso é o principal produto desse processo de redução.

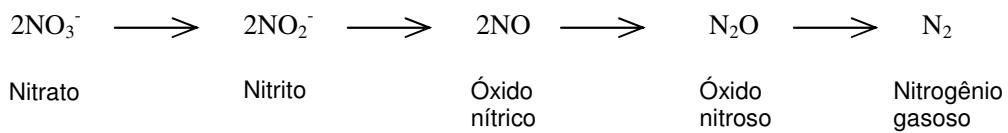


Figura 3.4 – Reações de desnitrificação
Fonte: adaptado de Pelczar *et al.* (1996)

As bactérias que podem utilizar os óxidos de nitrogênio como aceptores de elétrons no lugar de oxigênio são bioquímica e taxonomicamente diversificadas. A desnitrificação pode ser realizada por espécies de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Thiobacillus*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Agrobacterium*, dentre outras (PELCZAR, et al., 1996, BLACK, 2002;).

O uso de condição desnitrificante tem sido empregado no tratamento de diversos compostos orgânicos que são utilizados como fonte de carbono e energia pelas bactérias. Nos últimos anos, a biodegradação de poluentes como BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos) tem sido estudada em condições desnitrificantes (BARBARO, 1992; GUSMÃO, 2005; CHEN, 2007).

Gusmão *et al.* (2007) avaliou a degradação do BTEX por culturas desnitrificantes em reator anaeróbio de leito fixo preenchido com espuma de poliuretano. A biomassa utilizada como inóculo foi proveniente de reator anaeróbio empregado no tratamento de efluentes de abatedouro de aves. Os dois reatores utilizados foram mantidos em temperatura controlada de 30 ± 1 °C e relação DQO/N de 4,1 e 2,4 para os reatores 1 e 2, respectivamente. Nitrato de sódio e solução etanólica foram usados na composição do meio sintético. As eficiências obtidas para a remoção do BTEX foram 98,8% e 95,7%, para os reatores 1 e 2, respectivamente.

Jianlong, Ping e Qian (1998) investigaram a degradação de Di-*n*-butil ftalato (DBP), composto usado na produção de plásticos, por bactérias desnitrificantes com nitrato como único aceptor de elétrons. Foram utilizados frascos selados de 150 mL inoculados com biomassa proveniente de um sistema de lodos ativados empregado no tratamento da unidade de coqueria de indústria siderúrgica. Os frascos foram incubados a 30 °C e mantidos sob agitação intermitente. Os resultados obtidos indicaram que acima de 1,25 mM de DBP ocorreu degradação completa em 100 h nas condições estudadas.

Lu *et al.* (2007) realizaram estudo sobre a degradação de surfactante aniônico, nonilfenol polietoxilatos (NPEOs), sob condições desnitrificantes em frascos de 150 mL inoculados com biomassa proveniente de lodos ativados desnitrificante. Os frascos permaneceram sob temperatura de 30 °C e agitação de 120 rpm ao abrigo da luz direta. A biodegradação de NPEOs foi rapidamente alcançada e, aproximadamente, 90% do surfactante

foi removido em 7 dias. Ademais, os autores afirmaram que a redução do nitrato estava necessariamente ligada a biodegradação de NPEOs, pois foram realizados testes com uso de inibidor da redução de nitrato.

Almendariz *et al.* (2001) investigaram a biodegradação de LAS em reator UASB utilizando nitrato (NO_3^-) como acceptor de elétrons. Como resultado, no reator acidogênico, foi constatado a degradação de 41 % de LAS. Tal resultado indicou que o surfactante estudado apresentou boa degradação sob condições desnitrificantes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Descrição geral

No experimento de degradação de LAS foi utilizado um reator anaeróbio operado em bateladas seqüenciais sob condições desnitrificantes com agitação mecânica construído em vidro. O reator foi inoculado com biomassa suspensa granulada. O sistema foi operado na ausência e, posteriormente, na presença de surfactante. Na Figura 4.1 está representada a fotografia do reator utilizada no estudo. Anteriormente, a operação do reator foram avaliadas as características hidrodinâmicas do sistema. Estes ensaios auxiliaram na definição do valor de rotação do agitador utilizado na operação do ASBR.

O reator foi monitorado por meio das seguintes análises: demanda química de oxigênio (DQO), ácidos voláteis totais (AVT), alcalinidade a bicarbonato (AB), pH, nitrato e LAS. Amostras de biomassa foram retiradas e analisadas por microscopia óptica de contraste de fase e fluorescência.



Figura 4.1 – Reator anóxico operado em bateladas seqüenciais com biomassa granulada

4.2 Ensaio Hidrodinâmico

Para verificar as características hidrodinâmicas do reator, foram realizados ensaios de estímulo/resposta, nos quais foi utilizada solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 0,5 N. Após preenchimento do reator com água de torneira, foram injetados 3 mL da solução de H_2SO_4 0,5 N com o agitador em movimento. Os valores de pH foram avaliados com o auxílio do potenciômetro. Os ensaios foram realizados para diferentes valores de rotação do agitador: 50, 75, 100, 125, 150 e 175 rpm.

4.3 LAS

Neste estudo, foi empregado detergente líquido comercial utilizado em limpeza doméstica da marca Ypê. O LAS foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em metodologia desenvolvida por Duarte *et al.* (2006). A concentração de LAS no detergente comercial resultou em 129,6 g de LAS/L.

4.4 Descrição do ASBR

O reator anóxico operado em bateladas seqüenciais em escala de bancada foi construído em vidro borosilicato com altura interna das paredes de 20,5 cm, altura interna medida no centro de 26,5 cm, diâmetro de 20,5 cm e volume líquido de 7 L. O reator foi equipado com agitador do tipo paleta com três pás plana formando ângulo de 60° entre si. Cada pá possuía 14 cm de comprimento e 2 cm de largura (Figura 4.2).

A entrada do substrato sintético e a saída do efluente eram realizados por mangueiras acopladas em orifícios localizados na parte superior do reator. Deve-se destacar que a mangueira do efluente foi fixada em altura pré-determinada a fim de serem descartados somente 3 L do total de 5 L de meio reacional. O sistema completo possui a agitação com funcionamento automatizado com auxílio de *timer*, banho termostatizado e bombas de alimentação e descarte. As bombas foram automatizadas com auxílio de *timer* acoplado na entrada de energia elétrica de cada unidade. Dessa maneira, todo o processo de enchimento, reação, sedimentação e descarte foram realizados automaticamente.

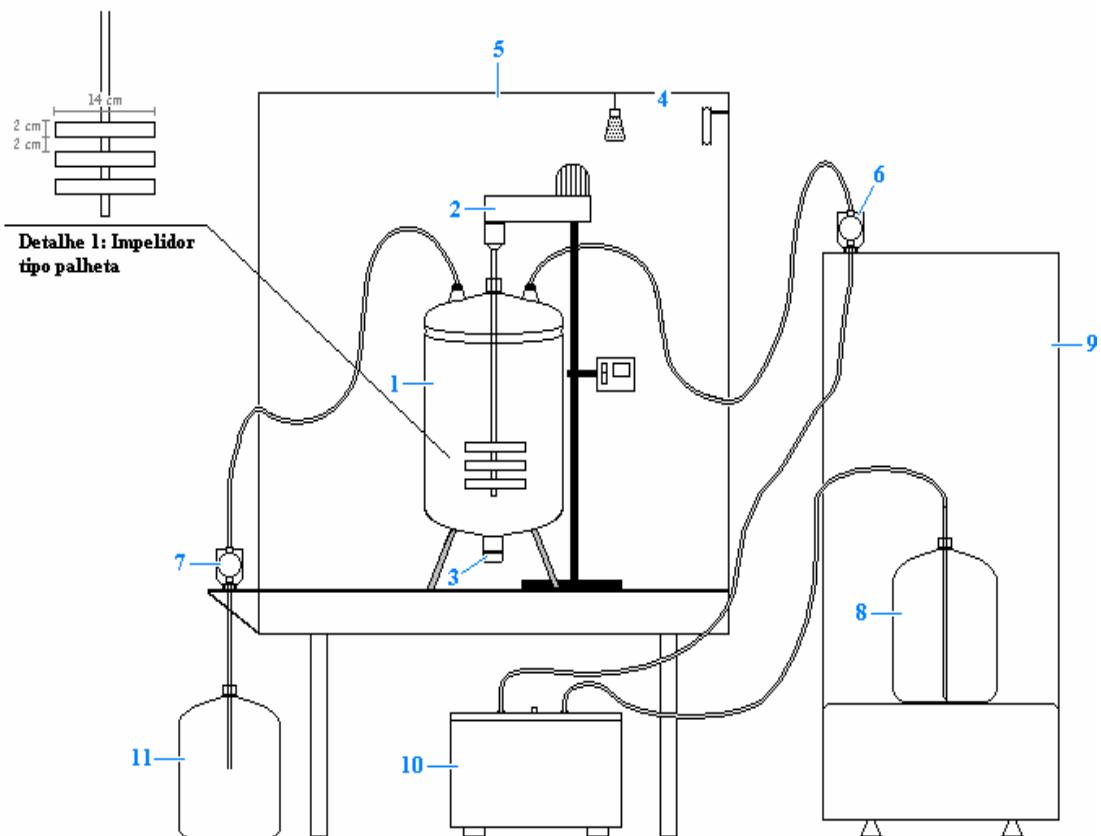


Figura 4.2 – Esquema do reator anóxico operado em bateladas seqüenciais: (1) tanque de reação; (2) agitador mecânico; (3) descarte de lodo; (4) sistema de aquecimento; (5) câmara; (6) bomba de alimentação; (7) bomba de descarga; (8) água resíduária sintética; (9) geladeira; (10) banho termostatizado; (11) depósito do efluente

O reator foi instalado em câmara climatizada a 30 ± 1 °C, e alimentado com água resíduária sintética acrescida de nitrato de sódio. A operação do reator consistiu de ciclos de 24 horas com tempo de sedimentação de 30 minutos. A duração das etapas de enchimento, reação e descarte foram otimizadas conforme o desempenho do ASBR. O tempo para enchimento do ASBR foi de 10 minutos, o tempo de reação foi de 23 h e 12 minutos e o tempo de descarte foi de 8 minutos.

4.5 Inóculo

A biomassa utilizada foi proveniente de lodo granulado de reator UASB empregado no tratamento de dejetos de suinocultura, instalado no Departamento de Engenharia Rural, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal. Foram adicionados ao reator 2 L desse lodo, que foi previamente sedimentando e descartado o sobrenadante. Dessa maneira, os 2 L de inóculo foram retirados desse lodo previamente selecionado pela melhor sedimentabilidade.

4.6 Operação do ASBR

Os ensaios do tratamento de LAS em ASBR foram divididos em quatro etapas de operação de acordo com mudanças na composição da água residuária e, como última etapa do experimento, foi realizada a digestão do lodo, onde procurou-se investigar a viabilidade da degradação do surfactante adsorvido na biomassa. Essas etapas de operação do ASBR estão descritas detalhadamente na Tabela 4.1.

Tabela 4.1- Etapas de operação do ASBR utilizado no tratamento de LAS

Etapas de operação	Período (dias)	Característica da alimentação
I	1 a 40	$191,5 \pm 15,1$ mg N-NO ₃ /L $743,1 \pm 235,1$ mg DQO/L sem adição de LAS
II	41 a 106	$153,5 \pm 41,0$ mg N-NO ₃ /L $630,6 \pm 86,9$ mg DQO/L $5,7 \pm 2,6$ mg LAS/L
III	107 a 138	$198,8 \pm 42,1$ mg N-NO ₃ /L $693,9 \pm 66,6$ mg DQO/L $41,3 \pm 22,4$ mg LAS/L
IV	139 a 181	$107,9 \pm 129,3$ mg N-NO ₃ /L retirada de etanol $39,2 \pm 16,1$ mg LAS/L
Digestão do lodo	182 a 211	Sem alimentação

A primeira etapa de operação do reator foi necessária para ocorrer à adaptação da biomassa à condição desnitrificante de acordo com a composição da água residuária sintética demonstrada nas Tabelas 4.2 e 4.3. A composição da água residuária sintética foi uma adaptação ao esgoto sintético formulado por Torres³ (1992) citado por Duarte (2006). A quantidade de etanol foi estabelecida a fim de ter-se valor de 600 mg/L de DQO, enquanto a quantidade de nitrato foi calculada para relação DQO/N de 3. Este valor foi adotado com base no estudo de Gusmão (2005), que avaliou a degradação do BTEX com relações de DQO/N de 4,1 e 2,4.

Na etapa II iniciou-se a adição de LAS ($5,7 \pm 2,6$ mg LAS/L) para haver adaptação inicial dos microrganismos ao surfactante. Na etapa III, essa concentração de LAS foi aumentada para $41,3 \pm 22,4$ mg LAS/L. Na etapa IV foi retirado o etanol e na alimentação foi adicionado LAS ($39,2 \pm 16,1$ mg LAS/L) como fonte de carbono.

Tabela 4.2 - Composição da água residuária sintética

Composição	Quantidade
Etanol	300 mg/ L
Bicarbonato de sódio	100 mg/ L
Fosfato de potássio monobásico	75 mg/ L
Nitrato de sódio	1214 mg/ L
Solução de sais (Tabela 4.3)	5 mL/L

Tabela 4.3 - Composição da solução estoque de sais

Substrato	Quantidade
NaCl	50 mg/L
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,9 mg/L
MgCl ₂ .6H ₂ O	1,4 mg/L

Fonte: Torres (1992) apud Duarte (2006)

³ TORRES, P. (1992) Desempenho de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgoto sanitário sob diferentes condições de operação. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Carlos, 1992.

4.7 Análises físico-químicas e cromatográficas

As análises das amostras do afluente e efluente do ASBR seguiram a freqüência e os parâmetros apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 – Análises de monitoramento do reator

Parâmetro	Método	Freqüência	Referência
pH (unidade)	Potenciométrico	2 vezes por semana	APHA (2000)
DQO filtrada (mg/L)	Espectrofotométrico	2 vezes por semana	APHA (2000)
Ácidos voláteis totais (mg HAc/L)	Titulométrico	2 vezes por semana	DILLALO e ALBERTSON (1961)
Alcalinidade (mgCaCO ₃ /L)	Titulométrico	2 vezes por semana	DILLALO e ALBERTSON (1961) modificado por RIPLEY <i>et al.</i> (1986)
Nitrato (mg/L)	Espectrofotométrico	2 vezes por semana	APHA (2000)
Sólidos totais (mg/L)	Gravimétrico	1 vez por semana	APHA (2000)
LAS (mg/L)	Cromatográfico (CLAE)	1 vez por semana	DUARTE (2006)

As quantificações de LAS nas fases líquida e sólida foram realizadas por cromatografia líquida (CLAE) de acordo com metodologia desenvolvida por Duarte *et al.* (2006). As amostras de LAS presente na biomassa foram submetidas à extração com metanol e ultra-som (Duarte, 2006).

Amostras de biomassa do ASBR foram coletadas ao final de cada etapa de operação para exames morfológicos em microscopia óptica de contraste de fase.

4.8 Exames microscópicos

Amostras da biomassa foram coletadas do inóculo com o auxílio de uma seringa ao final de cada etapa de operação do reator anóxico. Essas amostras microbianas foram armazenadas em frascos de antibiótico em geladeira por período inferior a uma semana.

Para os exames microscópicos, primeiramente, foi preciso promover a ruptura dos grânulos de biomassa colocando-se um pequeno volume da amostra microbiana em frascos de antibiótico com a presença de pérolas de vidro, em seguida, os frascos foram agitados por aproximadamente 15 minutos. Posteriormente, as lâminas de vidro previamente limpas com álcool receberam uma camada de ágar e, após, ligeiro esfriamento para solidificação do ágar, foi adicionada uma gota de amostra microbiana. As lâminas foram observadas em microscópio Leica de contraste de fase e fluorescência, acoplado à câmera Optronics, com captura de imagem e software Image-Pro Plus.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação do tempo de mistura

Os ensaios hidrodinâmicos demonstraram características hidrodinâmicas do reator positivas para as rotações analisadas (50, 75, 100, 125, 150 e 175 rpm), como a rápida resposta do reator ao pulso de H₂SO₄ e a homogeneização do meio reacional demonstrada pelos constantes valores de pH ao longo do tempo estudado. Dessa maneira, escolheu-se a rotação de 50 rpm para o agitador levando em conta que esse valor escolhido apresenta boa homogeneização do meio e não proporcionou a ruptura ou danificação dos grânulos provenientes do inóculo. Duarte *et al.* (2007) utilizou rotação de 50 rpm para agitação empregada no reator ASBR utilizado no tratamento de LAS. Na figura 5.1 estão representados os resultados do ensaio hidrodinâmico.

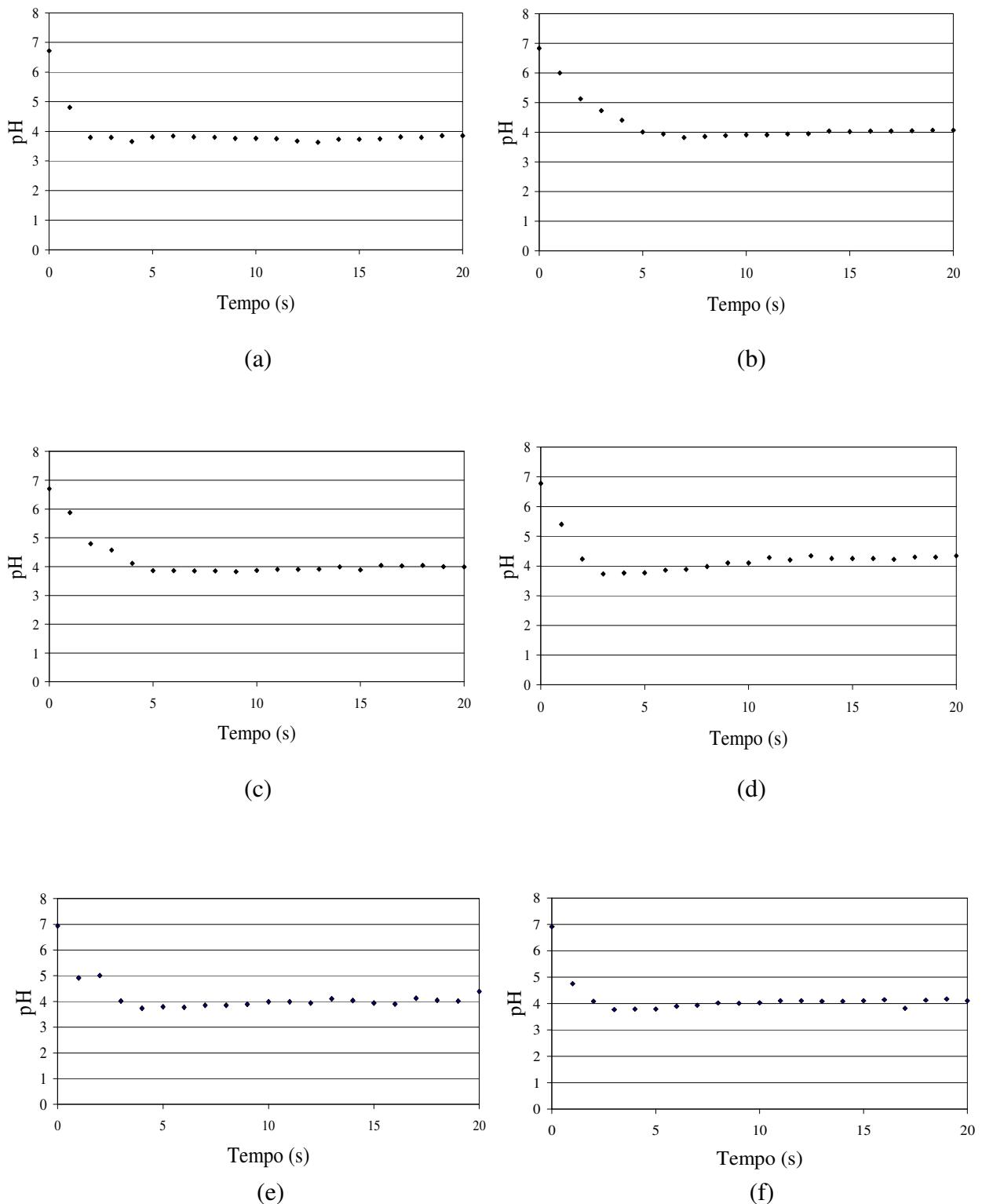


Figura 5.1 – Resultado do ensaio hidrodinâmico de estímulo/resposta: (a) 50 rpm; (b) 75 rpm; (c) 100 rpm; (d) 125 rpm; (e) 150 rpm e (f) 175 rpm

5.2 Inóculo

Foi realizada análise de sólidos totais, fixos e voláteis presentes no inóculo. A concentração de sólidos totais foi de 43,5 g/L, sendo que, cerca de 35,5 g/L (82%) corresponderam aos sólidos voláteis, ou seja, a parte biodegradável dos sólidos totais (principalmente, composto da matéria orgânica). O restante correspondeu aos sólidos fixos, 8,0 g/L, ou seja, a parte inorgânica, sólidos não incineráveis.

Considerando-se que foram utilizados 2 L de inóculo para início de operação do ASBR e um volume de 3 L de alimentação totalizando 5 L de volume útil, verifica-se que a quantidade de sólidos inicial no reator foi de 17,39 g, dos quais cerca de 14,21 g corresponderam a sólidos voláteis e somente cerca de 3,18 g correspondem a sólidos fixos.

5.3 Determinação do tempo de sedimentação

No final do primeiro ciclo de 24 h o impelidor foi desligado e verificou-se que não houve significativa sedimentação da biomassa para 30 e 60 minutos, pois o sobrenadante (a ser descartado), continha muitos sólidos suspensos. Por esse motivo, o descarte do efluente somente foi realizado depois de 24h com o agitador desligado. Nos segundo e terceiro ciclos, boa sedimentação dos sólidos foi observada por volta de 50 minutos. Finalmente, no quarto dia de operação, foi obtida após 30 minutos uma boa sedimentação da biomassa. Portanto, determinou-se que o tempo de sedimentação para correta operação do ASBR foi de 30 min.

5.4 Monitoramento do ASBR

A etapa I de operação do ASBR teve como objetivo adaptar e favorecer o desenvolvimento da biomassa proveniente do inóculo à condição desnitrificante. Para isso, foi adicionado nitrato de sódio ao reator em concentração de $191,5 \pm 15,1$ mg N- NO_3/L . Adotou-se relação DQO/N igual a 3, pois foi um valor intermediário do estudo de Gusmão (2005), que avaliou a degradação do BTEX com relações DQO/N de 4,1 e 2,4.

Os valores de DQO foram maiores que o previsto de 600 mg/L durante essa etapa devido a problemas operacionais. O valor afluente médio de DQO para essa etapa foi $743,1 \pm 235,1$ mg/L, como pode ser observado na Figura 5.2. O final da etapa I foi determinado pelo aumento da remoção da DQO filtrada para o valor de 91,5%, sendo que a média de remoção de DQO durante esta etapa foi de $72,0 \pm 14,5\%$, considerando o valor efluente de $202,4 \pm 127,2$ mg/L.

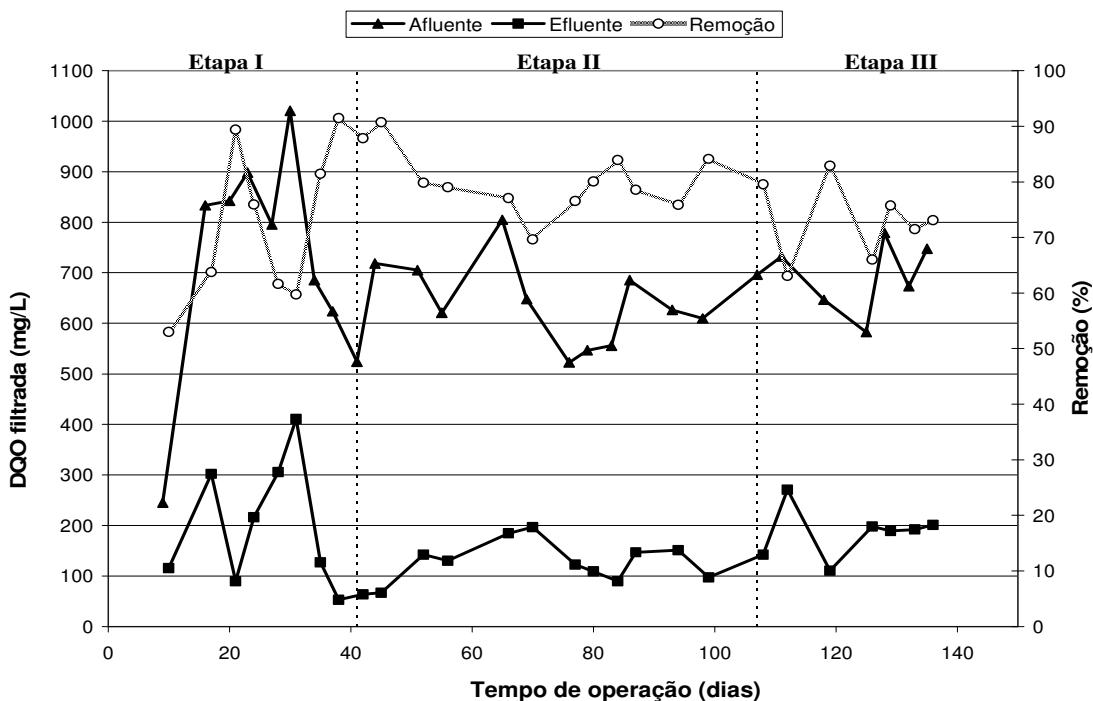


Figura 5.2 – Variação temporal de DQO filtrada afluente e efluente e eficiência de remoção ao longo da operação do reator ASBR

A remoção média de matéria orgânica na etapa II, em termos de DQO, foi de $80,3 \pm 5,7\%$, considerando valor afluente de $630,6 \pm 86,9 \text{ mg/L}$ e valor efluente de $125,0 \pm 40,7 \text{ mg/L}$. Na etapa III, a remoção média de DQO foi de $73,1 \pm 7,0\%$, considerando valor afluente de $693,9 \pm 66,6 \text{ mg/L}$ e valor efluente de $186,2 \pm 50,3 \text{ mg/L}$. Na etapa IV, não houve adição de etanol e, portanto, não ocorreu geração de DQO que possa ser avaliada.

A etapa I teve duração de 41 dias e a remoção média de N-NO_3^- foi de $97,2 \pm 5,3\%$, como pode ser observado na Figura 5.3. Pode-se notar nesta figura que a partir do 17º dia foi atingida eficiência de remoção de 98,4%.

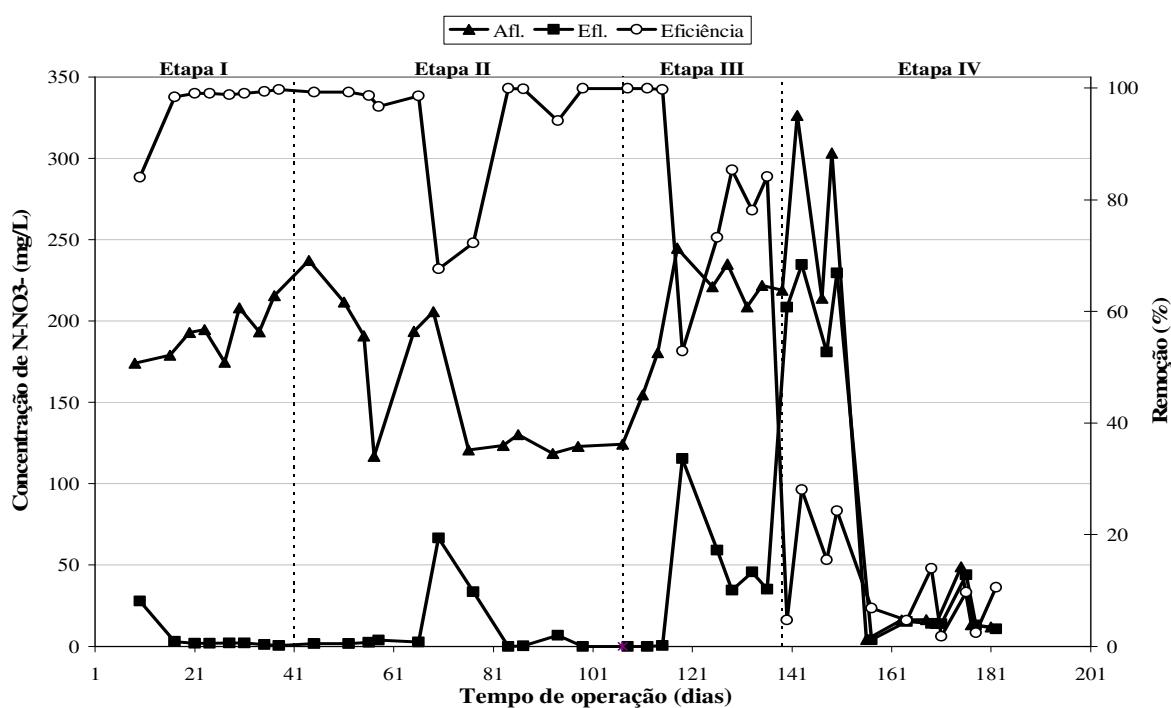


Figura 5.3 – Variação temporal de concentração de nitrato afluente e efluente e eficiência de remoção ao longo da operação do reator ASBR

Na etapa II (duração de 65 dias) a concentração afluente de nitrato foi de $153,5 \pm 41,0$ mg N-NO₃/L e remoção foi de $92,7 \pm 12,2$ %. Na etapa III (duração de 31 dias) a concentração afluente de nitrato foi de $198,8 \pm 42,1$ mg N-NO₃/L e remoção foi de $84,2 \pm 16,4$ %. Na etapa IV (duração de 42 dias), o etanol foi retirado e com isso houve a necessidade de diminuir a quantidade de nitrato adicionada, assim, a concentração afluente de nitrato foi de $107,9 \pm 129,3$ mg N-NO₃/L e a remoção foi de $11,2 \pm 8,7$ %, apresentando significativa queda na remoção de N-NO₃.

Na etapa IV, que foi determinada pela retirada do etanol restando somente LAS como fonte externa de carbono e energia, a remoção média de N-NO₃⁻ apresentou significativa diminuição, caracterizando perda da atividade desnitrificante realizada no reator ASBR. Essa diminuição da atividade desnitrificante pode ser atribuída à morte de bactérias que utilizavam o etanol como fonte orgânica e energética e, também, por não haver carbono suficiente para as bactérias desnitrificantes.

A análise da concentração de N-NO₃⁻ realizada por espectrometria no comprimento de onda ultravioleta teve que ser interrompida durante a etapa II, pois o espectrofotômetro foi levado para a manutenção. Dessa maneira, a medição da concentração de N-NO₃⁻ passou a ser realizada em FIA (*Flow Injection Analysis*). Além da determinação da concentração de N-NO₃⁻. Foi possível determinar no FIA a concentração de N-NO₂⁻. Os valores das concentrações de N-NO₂⁻ efluente estão representados na Figura 5.4.

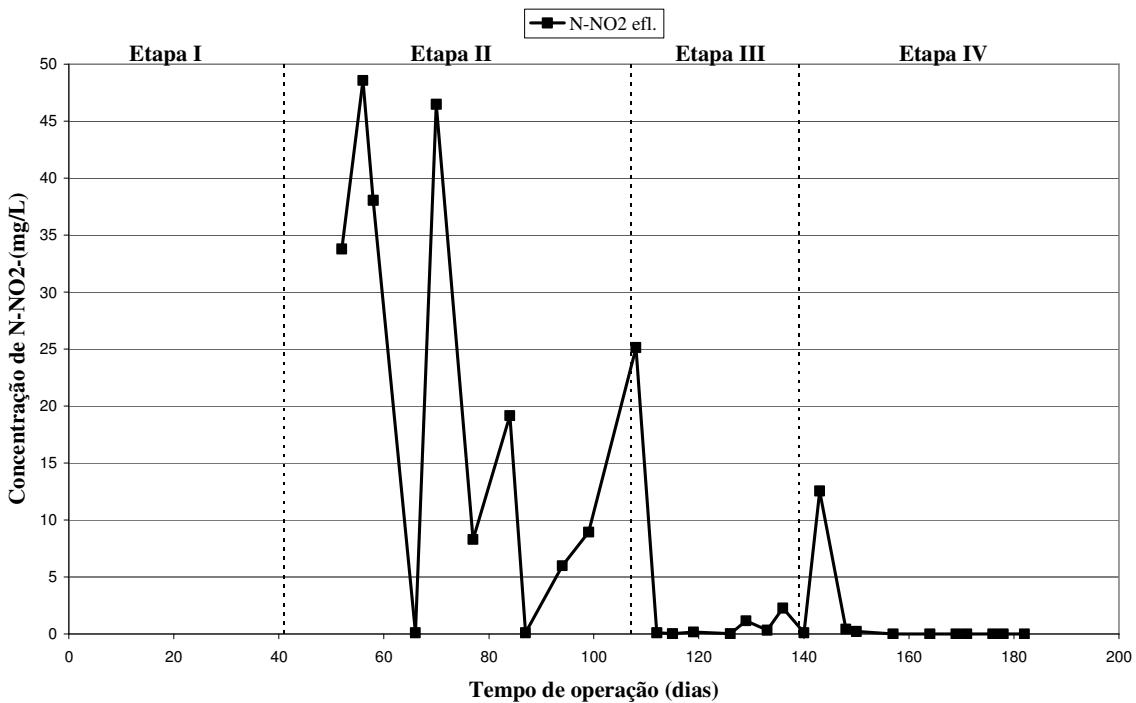


Figura 5.4 – Variação temporal de nitrito efluente

A quantificação da concentração de nitrito efluente permitiu verificar se a remoção de nitrito estava sendo completa, pois este composto é um intermediário da redução do nitrato à nitrogênio gasoso.

Como pode ser observado na Figura 5.4, a concentração de N-NO₂⁻ foi bem variável na etapa II, seu valor máximo foi de 48,6 mg N-NO₂⁻/L. Contudo, comparando-se com a quantidade de N-NO₃⁻ presente no afluente, 191,0 mg N-NO₃⁻/L, e no efluente 2,6 mg N-NO₃⁻/L, verifica-se que mesmo com essa quantidade máxima de nitrito houve a redução do nitrato. O valor médio da remoção de nitrato na etapa II foi 92,7 ± 12,2 %.

Na etapa II, foi mantida a concentração de etanol e adicionado a primeira concentração de LAS. Dessa maneira, os microrganismos tiveram como fonte de carbono e energia disponíveis esses dois substratos. A concentração do surfactante foi de 5,7 ± 2,6 mg LAS/L. Essa concentração afluente ficou abaixo da concentração pré-estabelecida teoricamente (22 mg LAS/L), provavelmente, por adsorção na biomassa e na mangueira de entrada da

alimentação, degradação dentro da serpentina do banho térmico, ou a concentração teórica de LAS existente no detergente líquido usado na preparação da solução estoque (129,6 g de LAS/L) estava superestimada. Desse modo, para as próximas etapas o banho térmico foi retirado, foram realizadas limpezas com maior freqüência nas mangueiras por onde o substrato sintético passava e a concentração de LAS adicionada no meio sintético foi aumentada.

A remoção do LAS no ASBR aconteceu, basicamente, por dois processos, a degradação por microrganismos e adsorção na biomassa. As concentrações de LAS monitoradas na fase líquida permitiram constatar que logo após a sua adição no reator (etapa II), praticamente todo o LAS foi adsorvido no lodo. Essa remoção brusca do surfactante pode ser observada na Figura 5.5, onde são apresentados os valores da remoção de LAS do sistema sem considerar a massa do surfactante adsorvida no lodo. Assim, para a real degradação de LAS é essencial levar em conta a quantidade que fica adsorvida no lodo.

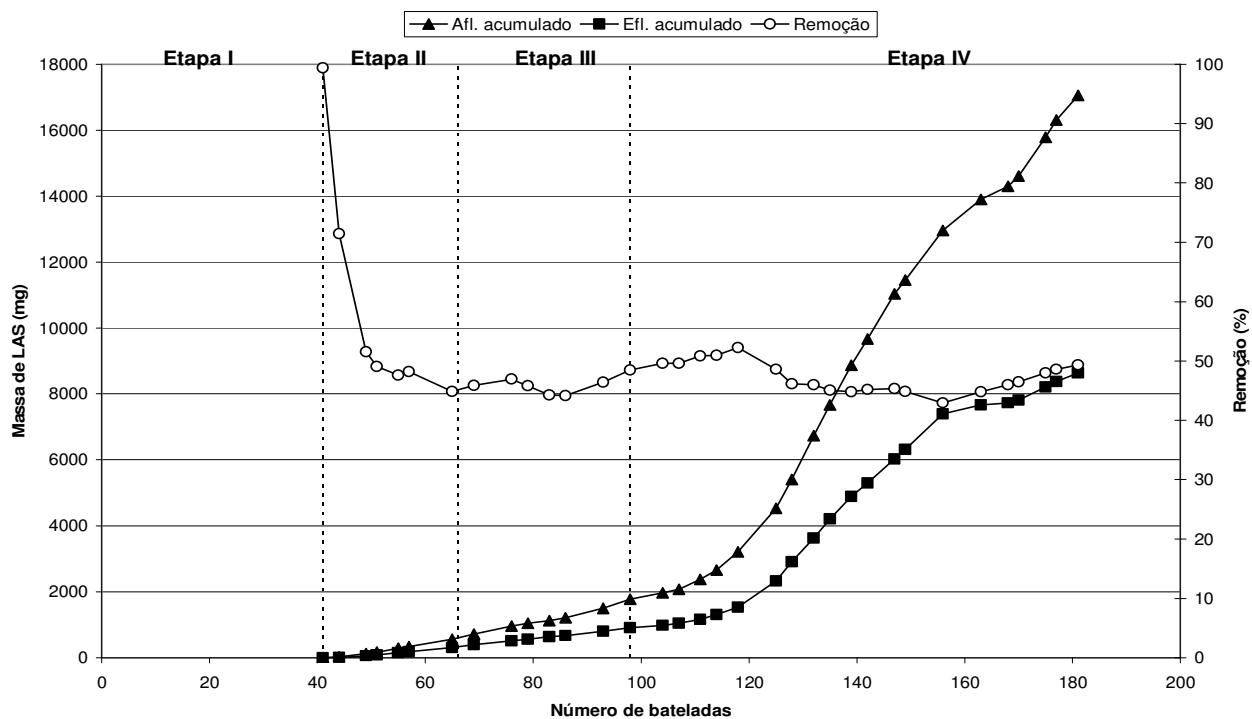


Figura 5.5 – Massa de LAS acumulada e removida

Para o cálculo da eficiência de degradação do LAS, foi adotada a massa de LAS adicionada ao longo de toda a operação do reator ASBR. Dessa forma, até 98 dias de operação, foram adicionados 1,8 g de LAS ao sistema, 0,9 g de LAS foram recuperados no efluente e 0,4 g ficaram adsorvidos no lodo, resultando em 27,4% de degradação de LAS.

Na etapa III, a concentração de LAS foi aumentada para $41,2 \pm 22,4$ mg LAS/L e o comportamento do sistema foi avaliado. Houve pequeno aumento da quantidade de sólidos totais de 3,9 g para os 5 L de volume útil como pode ser observado na Figura 5.6. Assim, até o 135º dia de operação foram adicionados 7,7 g de LAS, recuperados 4,2 g de LAS no efluente e ficaram adsorvido ou precipitado no lodo 0,7 g de LAS, resultando em 35,3% de degradação.

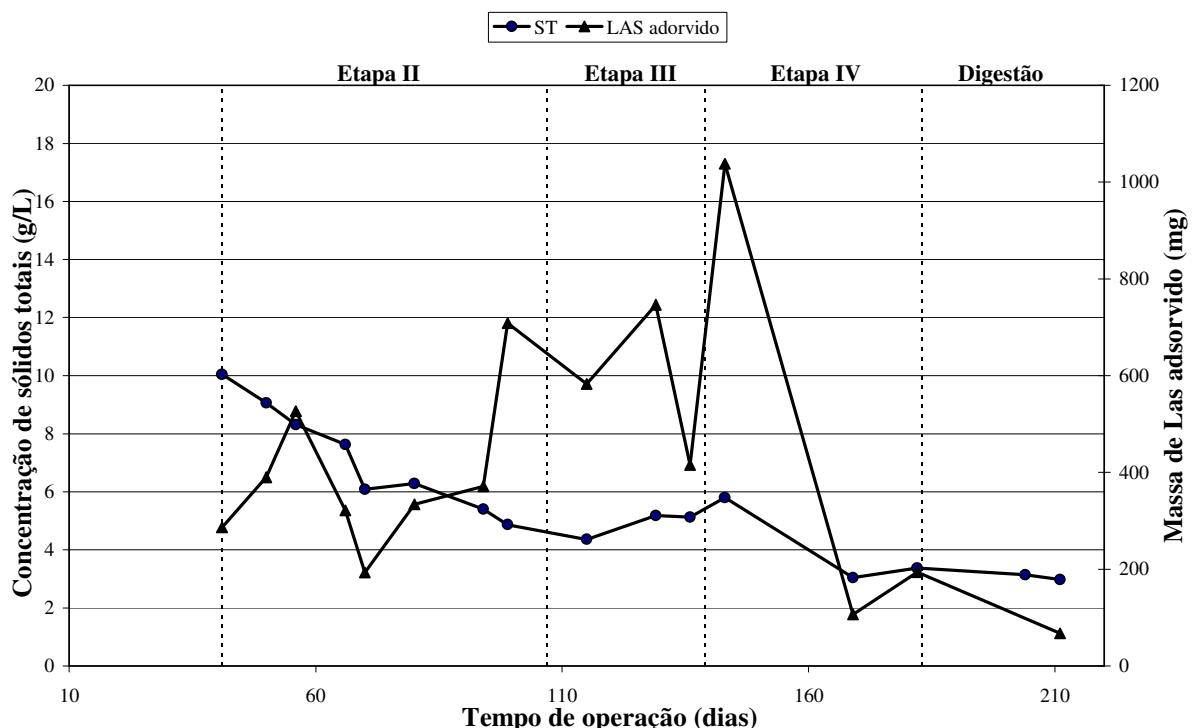


Figura 5.6 – Variação temporal de sólidos totais e massa de LAS adsorvida no reator ASBR

É importante lembrar que para as análises de LAS adsorvida uma pequena quantidade de biomassa era retirada do reator ASBR semanalmente. Essa quantidade retirada variou de

0,2 a 0,5 g de biomassa por semana. Assim, esse foi considerado um fator importante na diminuição da biomassa presente no reator.

A quantidade de sólidos totais na etapa IV apresentou significativa diminuição, atingindo valor de 3,4 g/L. Contudo, considerando o balanço de massa do LAS até o 181º dia, verificou-se que dos 17,1 g de LAS adicionados, 8,6 g de LAS foram recuperados no efluente e, somente 0,1 g de LAS ficaram adsorvidos no lodo, perfazendo degradação de 48,3%.

A última fase de digestão do lodo teve duração de 29 dias e foi realizada com o intuito de tratar o LAS adsorvido na biomassa. Essa etapa de tratamento do lodo apresentou remoção de 61,5% da massa de LAS adsorvida.

Em relação à alcalinidade, pode ser observado pelas Figuras 5.7 e 5.8, que a maior variação deu-se na etapa IV, demonstrando que o meio estava perdendo seu efeito de tamponamento. Nesta etapa, o etanol foi retirado deixando-se apenas o LAS como fonte de carbono para as bactérias. Logo, além de ter ocorrido brusca diminuição da quantidade de carbono do meio sintético, a dificuldade de remover carbono do surfactante foi muito maior em relação à remoção de carbono da molécula de etanol.

O valor de pH na etapa IV, que pode ser observado na Figura 5.9, variou ocorrendo brusca e progressiva diminuição no afluente e efluente, chegando a atingir valores de pH afluente da ordem de $7,2 \pm 0,4$ e efluente de $7,1 \pm 0,3$. Todavia, nas etapas anteriores os valores foram: para o afluente, próximo de 8 e, para o efluente, acima de 8. Segundo Metcalf e Eddy (1998), o valor ótimo de pH do meio para a desnitrificação está entre 7 e 8.

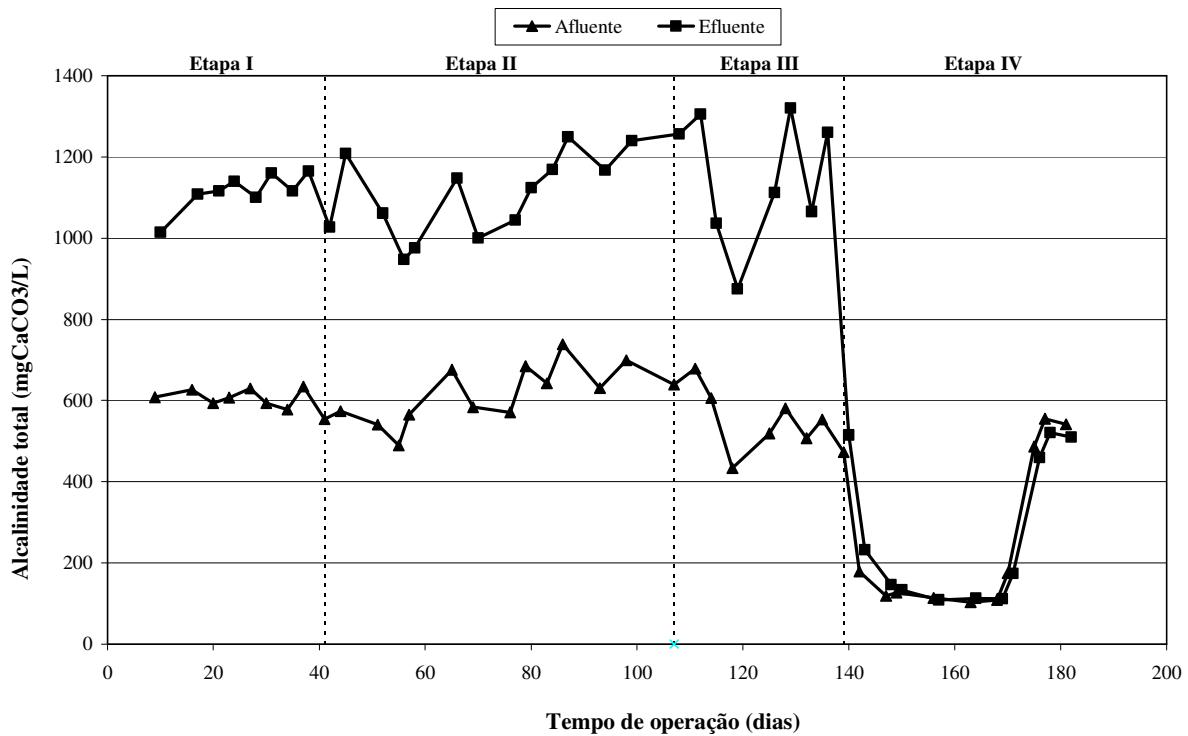


Figura 5.7 – Variação temporal de alcalinidade total afluente e efluente

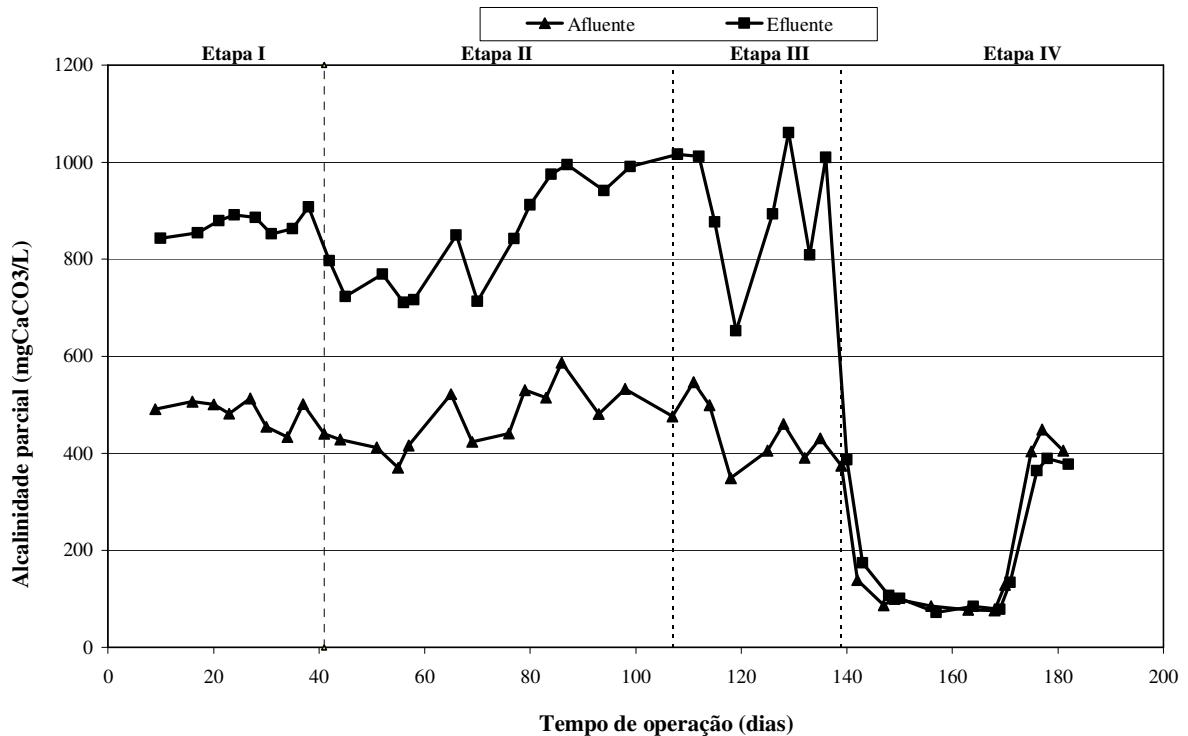


Figura 5.8 – Variação temporal da alcalinidade parcial afluente e efluente

Essa considerável diminuição do pH durante a etapa IV ocorreu provavelmente como consequência da diminuição da atividade desnitrificante, pois o processo de desnitrificação ocasiona o aumento do pH. Na tentativa de aumentar o valor do pH, a concentração de bicarbonato afluente foi aumentada, porém não houve muito sucesso na retomada de valores de pH para patamares próximos aos valores das etapas anteriores.

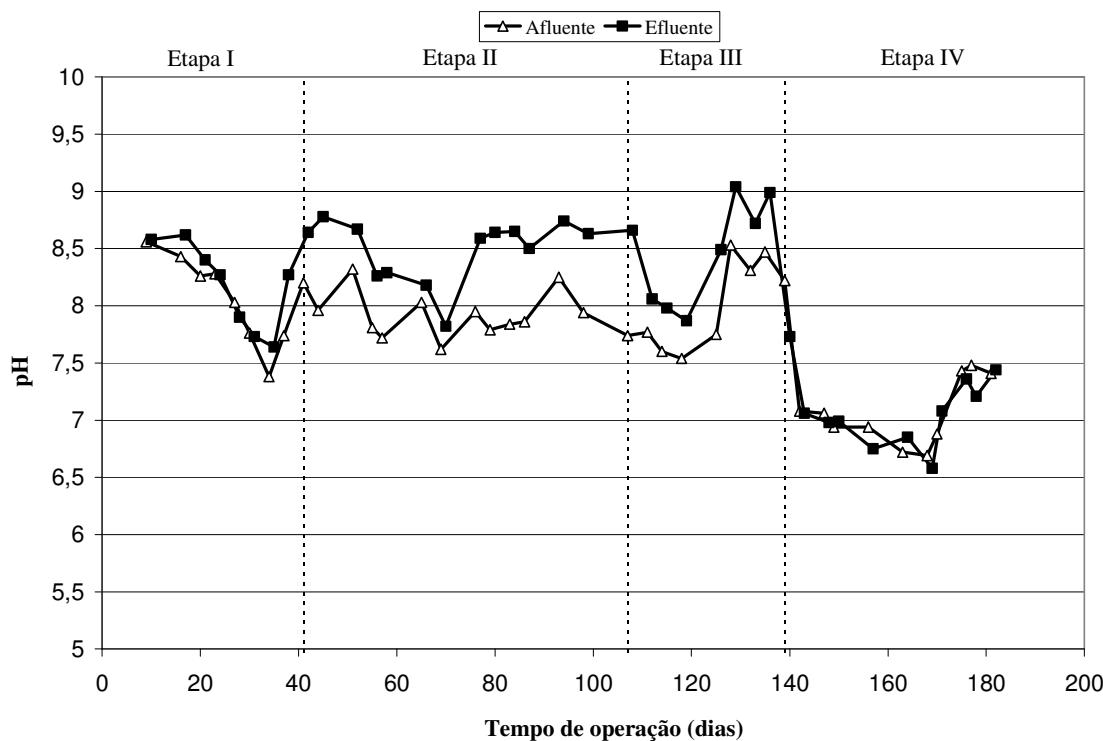


Figura 5.9 – Variação temporal de pH afluente e efluente

A variação temporal de ácidos voláteis totais pode ser acompanhada na Figura 5.10, onde nota-se que as maiores variações ocorreram somente no início de operação do reator, durante a primeira fase. A concentração média de ácidos voláteis efluente para a etapa I foi $77,6 \pm 38,74$ mg Hac/L , para a etapa II foi $42,39 \pm 3,4$ mg Hac/L, para a etapa III foi $43,68 \pm 4,9$ mg Hac/L e para a etapa IV foi $37,4 \pm 3,8$ mg Hac/L.

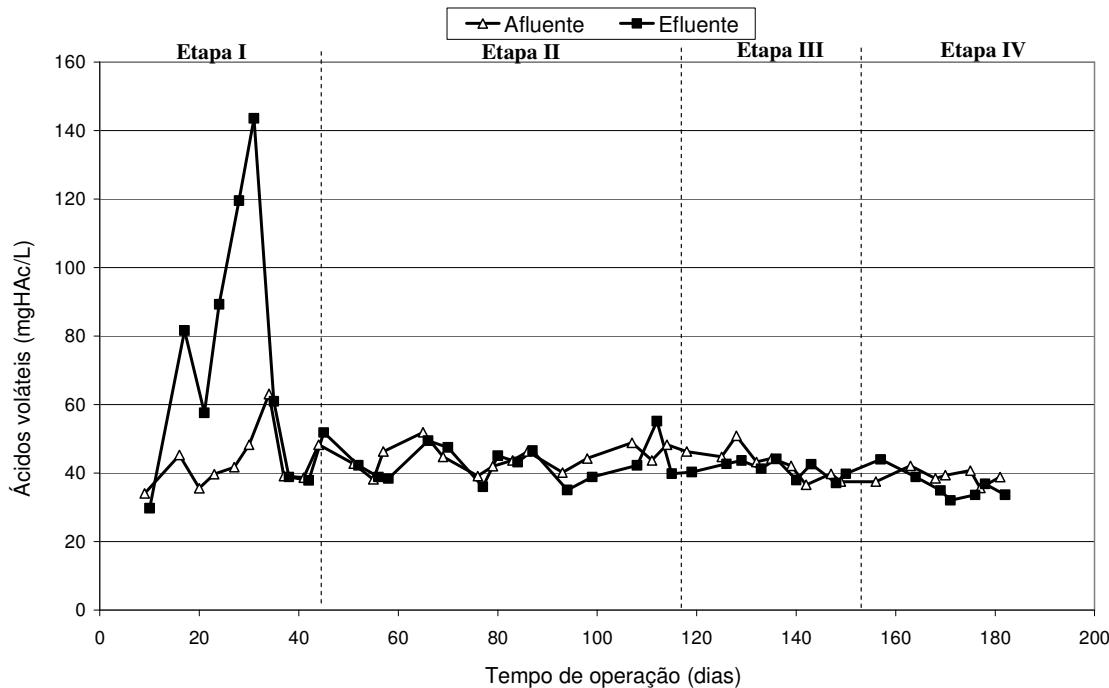


Figura 5.10 – Variação temporal de ácidos voláteis totais afluente e efluente

5.5 Microscopia óptica

Foi realizada a investigação da diversidade microbiana presente no inóculo proveniente do reator UASB por microscopia óptica de contraste de fase. Verificou-se a presença de bacilos, bacilos em cadeia e filamentos (Figura 5.11).

A diversidade microbiana foi monitorada no final das quatro fases de operação do reator ASBR de amostras retiradas da biomassa. As morfologias microbianas predominantes de cada fase de operação do ASBR estão representadas nas Figuras 5.12, 5.13, 5.14 e 5.15.

Análises de morfologias predominantes dos organismos presentes na biomassa por meio de microscopia óptica evidenciaram que a diversidade morfológica era maior no inóculo antes de ser utilizado no reator ASBR. Após a operação do reator em condições desnitrificantes, verificou-se o predomínio de bacilos nas duas primeiras etapas e, somente

nas duas últimas, foi observado além dos bacilos a existência de cocos. Duarte (2006) observou o predomínio de cocos e bacilos nos reatores submetidos a 50 mg/L, 100 mg/L e 200 mg/L de LAS.

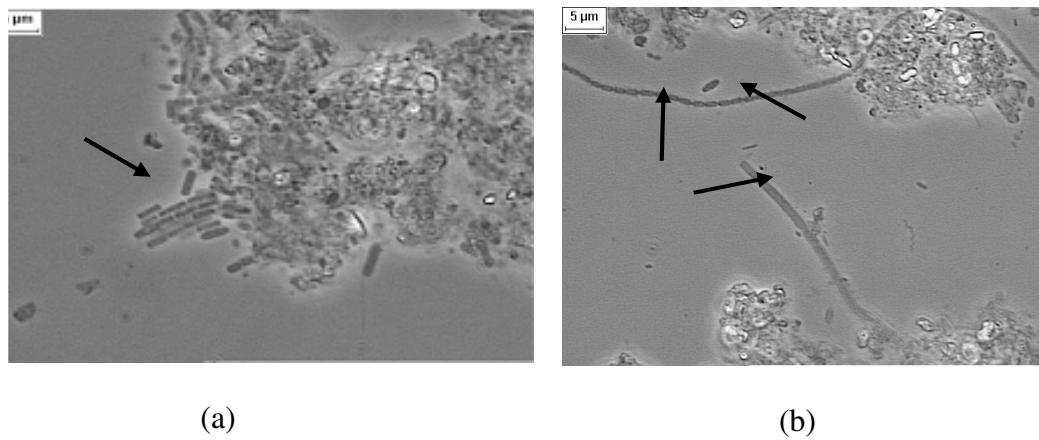


Figura 5.11 – Microscopia óptica de contraste de fase de morfologias microbianas presentes no inóculo: (a) bacilos, (b) bacilos, bacilos em cadeia e filamentos.

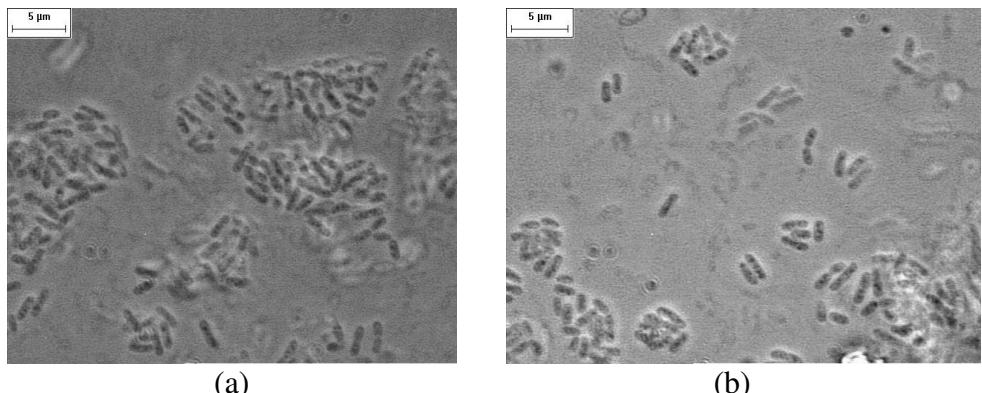


Figura 5.12 – Microscopia óptica de contraste de fase de morfologias microbianas presentes na etapa I do reator ASBR, adaptação ao meio desnitrificante: presença predominantemente de bacilos

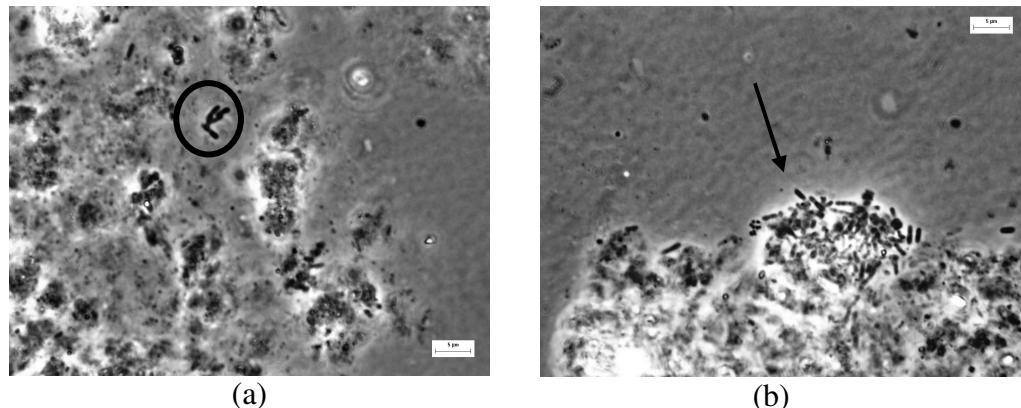


Figura 5.13 – Microscopia óptica de contraste de fase de morfologias microbianas presentes na etapa II do reator ASBR, primeira etapa com LAS: presença predominantemente de bacilos

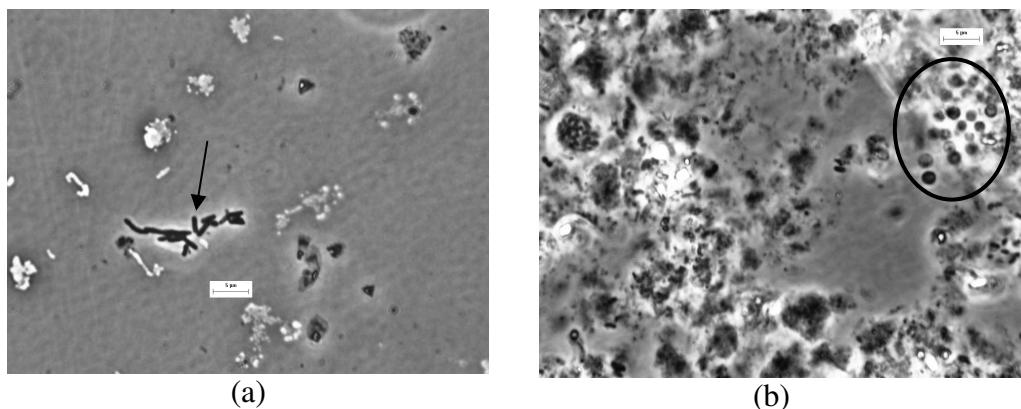


Figura 5.14 - Microscopia óptica de contraste de fase de morfologias microbianas presentes na etapa III do reator ASBR, aumento da concentração de LAS: (a) bacilos, (b) cocos

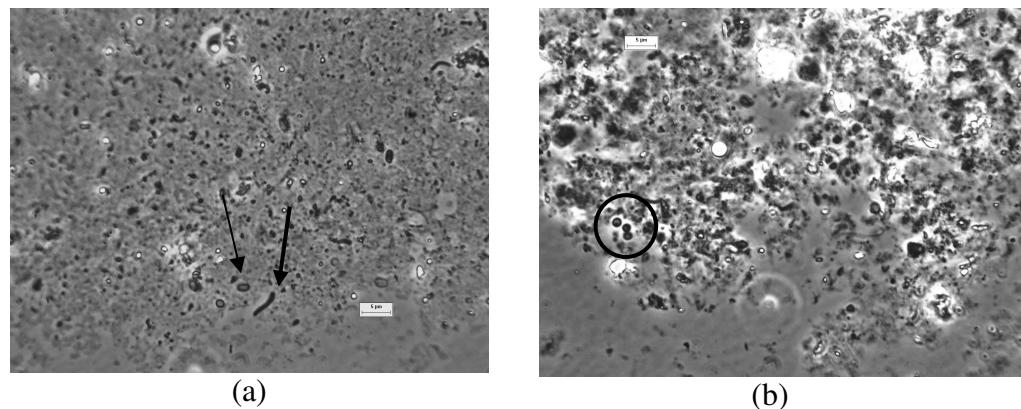


Figura 5.15 - Microscopia óptica de contraste de fase de morfologias microbianas presentes na etapa IV do reator ASBR, somente LAS: (a) bacilo e cocobacilos, (b) cocos

6 CONCLUSÕES

A utilização do reator ASBR submetido às condições impostas neste trabalho foi uma alternativa inovadora para o estudo da degradação de LAS. O desenvolvimento desta pesquisa demonstrou ser um método confiável para investigar o tratamento de LAS sob condições desnitrificantes. Este estudo possibilitou analisar parâmetros de operação do reator ASBR como a rotação do agitador utilizado (50 rpm) e tempo de sedimentação (30 min) a fim de aperfeiçoar a degradação do surfactante.

O balanço de massa do sistema demonstrou que o ASBR foi capaz de degradar o surfactante presente no detergente doméstico, com 48,3 % na presença somente do LAS como única fonte de carbono adicionada a água residuária sintética.

Co-substratos de fácil assimilação pelas bactérias como o etanol, podem causar diminuição na eficiência de degradação de LAS, uma vez que são consumidos preferencialmente, pois a molécula do LAS além de apresentar cadeia linear de hidrocarbonetos, possui um anel aromático, que são estruturas químicas de difícil assimilação.

A condição desnitrificante foi alcançada facilmente na primeira etapa e manteve-se, na ausência e presença de LAS, em boas condições até a segunda etapa. Porém, com o aumento da concentração de LAS e retirada do etanol houve significativa diminuição da fonte de carbono e a atividade desnitrificante apresentou acentuada diminuição, apesar da degradação de LAS ter aumentado. Isso pode sugerir que a maior parte das bactérias que degradam LAS não foi capaz de reduzir o nitrato de sódio.

A massa total de LAS aplicada ao sistema foi 17,1 g sendo 8,6 g recuperados no efluente e 0,1 g adsorvidos no lodo. Durante a digestão do lodo que durou 29 dias, a massa de LAS adsorvida foi degradada em 61,5%. Esse valor de remoção poderia ter sido maior se esta fase fosse prolongada por mais alguns dias.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMENDARIZ, F. J.; MERÁZ, M.; SOBERÓN, G.; MONROY, O. (2001) Degradation of linear alkylbenzene sulphonate (LAS) in an acidogenic reactor bioaugment with a *Pseudomonas aeruginosa* (M113) strain; *Water Science Technology*, v. 44, p. 183-188.
- APHHA-AWWA-WPCF. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. 20^a ed. Washington, DC: American Public Health Association.
- BARBARO, J. R.; BARKER, L. A.; LEMON, L. A.; MAYFIELD, C. I. (1992) Biotransformation of conditions: field and laboratory observations; *Journal of Contaminant Hydrology*, v. 11, p. 245-272.
- BERNA, J. L.; BATTERSBY, N.; CAVALLI, L.; FLTCHER, R.; SCHOWANEK, D.; STEBER, J. (1999) Anaerobic Biodegradation of surfactants: review of scientific information; *organizado por Environmental Risk Assessment Steering Committee – a detergent industry group*.
- BERNA, J. L.; FERRER, J.; MORRENO, A. (1989) The fate of LAS in the Environment; *Tenside Surfactants Detergents*, v. 26, p. 101-107.
- BLACK, J. G. Microbiologia: fundamentos e perspectivas; tradução Eiler Fritsch Toros. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 829 p.
- BRANDT, K. K.; JORGENSEN, N. O. G.; NIELSEN, T. H.; WINDING, A. (2004) Microbial community-level toxicity testing of linear alkylbenzene sulfonates in aquatic microcosms. *FEMS Microbiology Ecology*.
- CAVALLI, L.; CASSANI, G.; PRAVETTONI, S.; NUCCI, G.; LAZZARIN, M.; ZATTA, A.; VIGANO, L. (2000). Surfactants in sediments; *The Clear Review*, v. 6, No 1, p. 100-111.

- CAVALLI, L (2004) Fate and Effects of Linear alkylbenzene Sulfonates (LAS) and Alcohol-Based Surfactants; in: Hand book of detergents: environmental impacts; edited by Uri Zoller; *Surfactant Science Series*, v.121, p. 373-427.
- CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Anbiental). Variáveis de qualidade das águas. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/Aqua/rios/variaveis.asp#>>. Acesso em: 4 de fevereiro de 2008.
- CHEN, Y. D.; BARKER, J. F.; GUI, L. (2007) A strategy for aromatic hydrocarbon bioremediation under anaerobic conditions and the impacts of ethanol: amicrocod study; *Journal of Contaminant Hydrology*, v. 96, p. 17-31.
- CSERHÁTI, T.; FORGÁCS, E.; OROS, G. (2002) Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. *Environment International*, v. 28, p 337-348.
- CONAMA: Resolução n.º 357 de 17 Março de 2005; Classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes
- DILLALO R., ALBERTSON O. E. (1961) Volatile acids by direct titration; *Journal WPCF*, v. 33, p. 356-365.
- DUARTE, I. C. S. (2006) “Caracterização microbiológica da remoção e degradação de alquilbenzeno linear sulfonado (LAS) em reatores anaeróbios com biofilme e células planctônicas”. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2006.
- DUARTE, I. C. S.; OLIVEIRA, L. L. de ; BUZZINI, A. P.; ADORNO, M. A. T.; VARESCHE, M. B. A. Development of a method by HPLC to determine LAS and its application in anaerobic reactors. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 17 (7), p. 1360-1367, 2006.

- DUARTE, I. C. S.; OLIVEIRA, L. L.; SAAVEDRA, N. K.; OKADA, D. Y.; MAYOR, M. S.; VARESCHE, M. B. A. (2007) Treatment of linear alkylbenzene sulfonate in mesophilic anaerobic sequencing batch reactor; In: International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology, 2007, Sevilha – Espanha.
- DUARTE, I. C. S; SAAVEDRA, N. K. D., OLIVEIRA, L. L., VARESCHE, M. B. A. (2005) Tratamento de alquilbenzeno sulfonado linear em reator anaeróbio horizontal de leito fixo inoculado com lodo de suinocultura; *Sinaferm XV Simpósio Nacional de Bioprocessos*.
- EICHHORN, P.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W.; KNEPPER, T. P. (2002) Incomplete degradation of linear alkylbenzene sulfonate surfactants in Brazilian surface waters and pursuit of their polar metabolites in drinking waters; *The Science of Total Environment*, v. 284, p. 123-134.
- GARCÍA-MORALES, J. L.; NEBOT, E.; ROMERO, L. I.; SALES, D. (2001) Comparison between acidogenic and methanogenic inhibition caused by linear alkylbenzene-sulfonate (LAS); *Chem. Biochem. Eng. Q*, v. 15, p. 13-19.
- GAVALA, H.; AHRING, B. K. (2002) Inhibition of the anaerobic digestion process by linear alkylbenzene sulfonates; *Biodegradation*, v. 13, p. 201-209.
- GINIGE, M. P.; HUGENHOLTZ, P.; DAIMS, H; WAGNER, M; KELLER, J.; BLACKALL, L. L. (2004) Use of stable-isotope probing, full-cycle rRNA analysis, and fluorescence in situ hybridization-microautoradiography to study a methanol-fed denitrifying microbial community; *Applied and Environmental Microbiology*, v. 70, p. 588-596.
- GONZÁLEZ-MAZO, E.; GÓMEZ-PARRA, A. (1996) Monitoring anionic surfactants (LAS) and their intermediate degradation products in the marine environment; *Trends in Analytical Chemistry*, 15, n°.8.
- GRIFFITHS, R.I.; WHITELEY, A.S.; O'DONNELL, A.G. (2000) Rapid method for coextraction of DNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA and

- rRNA-based microbial community composition; *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, p. 5488-5491.
- GUSMÃO, V. R. (2005) *Caracterização microbiológica de cultura desnitrificante de reator anaeróbio horizontal de leito fixo utilizado na remoção de BTEX*. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2005.
- GUSMÃO, V. R.; CHINALIA, F. A.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A. (2007). Performance of a reactor containing denitrifying immobilized biomass in removing ethanol and aromatic hydrocarbons (BTEX) in a short operating period; *journal of Hazardous Materials*, v. 139, p. 301-309.
- HUANG, X.; ELLIS, T. G.; KAISER, S. K. (2000). Extant biodegradation testing with linear alkylbenzene sulfonate in laboratory and field activated sludge systems; *Water Environment Federation*.
- JIANLONG, W.; PING, L.; YI, QIAN (1998) Microbial metabolism of di-butyl phthalate (DBP) by a denitrifying bacterium; *Process Biochemistry*, v. 34, p. 745-749.
- KNOWLES, R. (1982) Denitrification; *Microbiological Reviews*, v. 46, p. 43-70.
- LARA-MARTÍN, P. A.; PETROVIC, M.; GÓMEZ-PARRA, A.; BARCELÓ, D.; GONZÁLEZ-MANZO, E. (2006). Presence of surfactants and their degradation intermediates in sediment cores and grabs from the Cadiz Bay area; *Environmental Pollution*, v. 144, p. 483-491.
- LØBNER, T.; TORÄNG, LARS; BATSTONE, D. J.; SCHMICT, J. E.; ANGELIDAKI, I. (2005) Effects of process stability on anaerobic biodegradation of LAS in UASB reactor; *Biotechnology and Bioengineering*, 89, n°. 7.
- LU, J.; JIN, Q; HE, Y.; WU, J.; ZHANG, W.; ZHAO, J. (2007) Biodegradation of nonyphenol polyethoxylates by denitrifying activated sludge; *Water Research*, v.42, p. 1075-1082.

- METCALF e EDDY (1998). Ingenieria de Aguas Residuales – Tramamiento, vertido y reutilización. v. 1, 3th. ed., McGraw-Hill.
- MANZ, W; WAGNER, M.; AMANN, R.; SCHLEIFER, K-H. (1994) *In situ* characterization of the microbial consortia active in two wastewater treatment plants; *Water Research*, v. 28, p. 1715-1723.
- MOCKAITIS, G.; RATUZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. (2006). Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic loading and supplemented alkalinity. *Journal of Environment Management*, v. 79, p. 198-206.
- MOGENSEN, A. S.; AHRING, B. K. (2002) Formation of metabolites during biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate in an Upflow anaerobic sludge bed reactor under thermophilic conditions. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 77, p. 483-488.
- MORAES, E. M.; ADORNO, M. A. T.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. (2000) Determinação de ácidos voláteis por cromatografia gasosa em efluentes de reatores anaeróbios tratando resíduos líquidos e sólidos. In: *VI Oficina e Seminário Latino-Americano de Digestão Anaeróbia, Recife-PE*. Anais. Editora Universitária – UFPE, p. 2813-2823.
- MORENO, A.; FERRER, J.; BEVIÁ, F. R.; PRATS, D.; VÁZQUEZ, B.; ZARZO, D. (1994) LAS monitoring in a lagoon treatment plant; *Water Research*, v. 28, p. 2183-2189.
- OLIVEIRA, L. L. (2006) “Influência do material suporte na degradação de alquilbenzeno linear sulfonado (LAS) em reator anaeróbio”. Tese (mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- PELCZAR JR., J. M.; CHAN, E.C.S.; KRIEGE, N. R. (1996) Microbiologia: conceitos e aplicações; tradução Sueli Fumie Yamada; Tania Ueda Nakamura, Tereza Cristina R. M. Oliveira, Benedito Prado Dias Filho, Lourdes Botelho Garcia. São Paulo: MAKRON Books, 1996. 517 p.

PEREIRA, N.; ZAIAT, M. Degradção anaeróbia de formaldeído em reatores operados em bateladas seqüenciais contendo biomassa imobilizada em espuma de poliuretano. Anais do I Seminário do Projeto Temático: Desenvolvimento de Sistemas Combinados de Tratamento de Águas Residuárias Visando a Remoção de Poluentes e a recuperação de energia e de produtos dos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre. 11 a 13 de dezembro de 2006, p. 367-375.

PINHO, S. C.; FERNANDES, B. S.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUZNEI, S. M.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. (2003). Estudo da viabilidade do tratamento de resíduos de suinocultura em reator anaeróbio em batelada seqüencial contendo biomassa imobilizada e agitação mecânica. Anais do II Seminário do Projeto Temático: Desenvolvimento, Análise, Aprimoramento e Otimização de Reatores Anaeróbios para Tratamento de Águas Residuárias. 23 a 25 de julho de 2003, p.184-193.

RIPLEY, L. E., BOYLE, W. C. AND CONVERSE, J. C. (1986) Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. *J. Water Pollut C Fed*, v. 58, p. 406-465.

RODRIGUES, J. A. D., PINTO, A. G., RATUSZNEI, S. M., ZAIAT, M., GEDRAITE, R. (2004) Enhancement of the performance of an anaerobic sequencing batch reactor treating low-strength wateswater through implementation of a variable syirring rate program. *Brazilian Journal of Chemical Engeering*, v. 21, p. 424-434.

SANZ, J. L.; CULUBRET, E.; FERRER, J.; MORENO, A.; BERNA, S. L. (2003). Anaerobic biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biodegradation*, 14, 57-64.

SANZ, J. L.; RODRIGUES, N.; FERRER, J.; MORENO, A.; BERNA, J. L. (2000) Evaluation of the inhibition potential of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) to the methanogenic process; *The CLER Review*, v. 6, p. 26-30.

SARFARAZ, S.; THOMAS, S.; TEWARI, U. K.; LYENGAR, L. (2004) Anoxic treatment of phenolic wastewater in sequencing batch reactor; *Water Research*, v. 38, p. 965-971.

SOUZA, D. A.; RIBEIRO, R.; CHINALIA, F. A.; ZAIAT, M.; FOREST, E. (2005) Degradação de BTEX em reator anaeróbio operado em batelada seqüencial. Anais do IV Seminário do Projeto Temático: Desenvolvimento, Análise, Aprimoramento e Otimização de Reatores Anaeróbios para Tratamento de Águas Residuárias; 20 a 22 de julho de 2005, p.124-131.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER (1998) 19th edn. Washington, DC, USA: American Public Health Association/ Americam Water Association/ Water Environment Federation.

SCHOLZ, N. (1998). Ecotoxicology of Surfactants. *The CLER Review* 4, p. 62-67.

SCOTT, M. J. AND JONES, M. N. (2000). THE BIODEGRADATION OF SURFACTANTS IN THE ENVIRONMENT. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, V. 1508, Ed. 1-2, p. 235-251.

SWISHER, R. D. (1987) Surfactant Biodegradation; publicado por Marcel Dekker: New York. 1085 p.

ZAIAT, M.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; CAMARGO, E. F. M.; BORZANI, W (2001) Anaerobic sequencing batch reactors for wastewater treatment a developing technology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 55, p. 29-35.

ZUPANČIČ, G. D.; STRAŽIŠČAR, M.; ROŠ, M. (2006) Treatment of brewery slurry in thermophilic anaerobic sequencing batch reactor; *Bioresource Technology*.

ANEXO A – Análises de Monitoramento

Tabela A.1 – Valores de monitoramento de pH, alcalinidade parcial, alcalinidade total e ácidos voláteis totais do ASBR

Etapa	Dias de operação	pH		Alcalinidade parcial (mg CaCO ₃ /L)		Alcalinidade total (mg CaCO ₃ /L)		Ácidos voláteis totais (mg Hac/L)	
		Af ⁽¹⁾	Ef ⁽²⁾	Af	Ef	Af	Ef	Af	Ef
I	9	8,56	8,58	490,6	843,2	608,6	1014,3	34,1	29,8
I	16	8,43	8,62	506,7	854,4	627,2	1108,6	45,3	81,6
I	20	8,26	8,4	500,5	879,2	593,7	1116,0	35,6	57,6
I	23	8,28	8,27	481,9	891,6	607,3	1139,6	39,7	89,3
I	27	8,03	7,9	512,9	885,4	629,7	1101,1	41,7	119,5
I	30	7,76	7,73	454,6	851,9	593,7	1160,6	48,3	143,5
I	34	7,38	7,64	433,5	863,0	577,5	1116,0	63,1	61,0
I	37	7,74	8,27	501,8	907,7	634,7	1165,6	39,2	38,9
II	41	8,2	8,64	439,7	797,3	553,9	1026,7	38,7	37,9
II	44	7,96	8,78	428,5	722,9	573,8	1209,0	48,3	51,8
II	51	8,32	8,67	412,3	768,8	540,3	1061,4	42,7	42,2
II	55	7,81	8,26	370,1	710,5	489,3	947,4	38,2	38,9
II	57	7,72	8,29	416,1	716,7	565,1	975,9	46,3	38,4
II	65	8,03	8,18	521,6	849,4	675,6	1148,2	51,9	49,4
II	69	7,62	7,82	423,5	713,0	583,7	1000,7	44,8	47,5
II	76	7,95	8,59	440,9	842,4	571,3	1044,7	39,2	36,0
II	79	7,79	8,64	530,4	912,1	685,1	1124,6	42,0	45,1
II	83	7,84	8,65	514,3	975,0	642,6	1169,6	43,8	43,2
II	86	7,86	8,5	586,5	994,5	738,7	1250,4	46,3	46,6
II	93	8,25	8,74	481,1	941,8	630,7	1167,9	40,2	35,0
II	98	7,94	8,63	533,0	991,1	699,6	1240,2	44,3	38,9
III	107	7,74	8,66	476,0	1015,8	639,2	1256,3	48,8	42,2
III	111	7,77	8,06	546,6	1012,4	679,2	1305,6	43,8	55,2
III	114	7,6	7,98	499,0	876,4	606,1	1037,0	48,3	39,8
III	118	7,54	7,87	348,5	652,8	433,5	874,7	46,3	40,3
III	125	7,75	8,49	405,5	893,4	519,4	1112,7	44,8	42,7
III	128	8,53	9,04	460,7	1060,8	580,6	1320,1	50,9	43,7
III	132	8,31	8,72	391,0	808,4	507,5	1065,9	43,2	41,3
III	135	8,47	8,99	431,0	1009,8	553,4	1260,6	44,3	44,2
IV	139	8,22	7,73	374,2	386,7	473,1	515,1	42,2	38,0
IV	142	7,08	7,06	138,7	174,2	178,6	232,5	36,6	42,6
IV	147	7,06	6,98	87,1	107,0	118,8	146,1	39,8	37,1
IV	149	6,94	6,99	100,4	101,1	126,2	133,6	37,5	39,8
IV	156	6,94	6,75	85,6	72,3	113,7	108,5	37,5	44,0
IV	163	6,72	6,85	77,5	84,1	102,6	112,9	42,2	38,9
IV	168	6,69	6,58	76,0	78,9	108,5	111,4	38,4	35,0
IV	170	6,88	7,08	129,2	133,4	174,2	173,9	39,4	32,1
IV	175	7,43	7,36	403,7	364,1	486,3	458,8	40,8	33,6
IV	177	7,48	7,21	448,7	388,8	555,0	520,7	35,7	36,9
IV	181	7,41	7,44	405,2	377,7	541,7	510,6	38,9	33,7

⁽¹⁾Amostras afluente

⁽²⁾Amostras efluente

Tabela A.2 – Monitoramento de DQO do ASBR

Etapa	Dias de operação	DQO filtrada (mg/L)		Eficiência (%)
		Af	Ef	
I	9	245,6	115,4	53,0
	16	833,4	302,2	63,7
	20	842,4	89,4	89,4
	23	898,2	216,2	75,9
	27	795,6	305,2	61,6
	30	1020,5	410,8	59,7
	34	685,5	127,1	81,5
	37	623,6	53,2	91,5
II	41	524,0	63,8	87,8
	44	718,7	66,8	90,7
	51	705,1	142,2	79,8
	55	620,6	130,2	79,0
	65	804,7	184,5	77,1
	69	647,7	196,6	69,7
	76	522,5	122,6	76,5
	79	546,6	109,0	80,1
	83	555,7	89,4	83,9
	86	685,5	146,8	78,6
	93	626,6	151,3	75,9
	98	610,0	97,0	84,1
III	107	696,0	142,2	79,6
	111	732,2	270,5	63,1
	118	646,2	110,5	82,9
	125	582,9	198,1	66,0
	128	779,0	189,0	75,7
	132	673,4	192,0	71,5
	135	747,3	201,1	73,1

Tabela A.3 – Monitoramento de N-NO₃ do ASBR analisado por espectrofotometria em ultravioleta

Etapa	Dias de operação	N-NO ₃ (mg/L)		Eficiência (%)
		Af	Ef	
I	9	174,0	27,8	84,0
	16	179,1	2,9	98,4
	20	192,9	1,8	99,1
	23	194,6	1,8	99,1
	27	174,7	2,1	98,8
	30	208,0	2,0	99,0
	34	193,3	1,2	99,4
	37	215,5	0,5	99,8
II	41	190,2	19,7	89,7
	44	237,3	1,7	99,3
	49	207,7	---	----
III	118	238,5	118,0	50,5
	125	224,5	55,0	75,5
	128	251,0	41,3	83,6
	132	215,3	51,2	76,2
	135	235,7	43,2	81,6
IV	139	235,1	207,5	11,7
	142	320,8	301,6	6,0
	147	243,0	233,2	4,0
	149	308,6	292,9	5,1
	163	21,7	20,3	6,3
	170	22,8	20,8	8,7
	175	61,2	59,2	3,3
	181	21,2	20,3	4,5

⁽¹⁾ Valor ausente devido ao não funcionamento do espectrofotômetro

Tabela A.4 – Monitoramento de N-NO₃ e N-NO₂ do ASBR analisado por FIA

Etapa	Dias de operação	N-NO ₂ (mg/L)		N-NO ₃ (mg/L)		Remoção de N-NO ₃ (%)
		Af	Ef	Af	Ef	
II	49	---	0	---	2,7	---
II	51	0	33,8	211,7	1,5	99,3
II	55	16,6	48,6	190,9	2,6	98,7
II	57	68,2	38,0	116,9	3,9	96,7
II	65	0	0,1	193,7	2,8	98,6
II	69	34,6	46,5	205,7	66,6	67,6
II	76	49,2	8,3	120,8	33,5	72,3
II	83	52,9	19,2	123,5	0,1	99,9
II	86	30,6	0,1	130,1	0,1	99,9
II	93	38,5	6,0	118,5	6,9	94,1
II	98	33,6	8,9	122,8	0,1	99,9
III	107	53,9	25,1	124,1	0,1	99,9
III	111	10,4	0,1	154,6	0,1	99,9
III	114	0	0,02	180,6	0,4	99,8
III	118	0,4	0,17	244,8	115,2	52,9
III	125	4,2	0,02	221,1	59,2	73,2
III	128	7,5	1,15	234,9	34,4	85,3
III	132	6,7	0,32	208,7	45,6	78,1
III	135	7,0	2,26	221,9	35,2	84,1
IV	139	2,7	0,1	218,8	208,4	4,8
IV	142	0,3	12,5	326,1	234,7	28,0
IV	147	1,3	0,4	214,0	180,8	15,5
IV	149	0	0,2	303,2	229,5	24,3
IV	156	0,1	0	4,4	4,1	6,9
IV	163	0	0	16,1	15,4	4,7
IV	168	0	0	16,3	14,1	14,0
IV	170	0	0	14,3	14,0	1,8
IV	175	0	0	48,9	44,2	9,7
IV	177	0	0	13,2	12,9	2,5
IV	181	0	0	12,0	10,7	10,6

Tabela A.5 – Monitoramento de LAS do ASBR

Etapa	Dias de operação	LAS (mg/L)	
		Af	Ef
II	41	1,016	0,01
	44	2,831	2,77
	51	5,952	6,05
	55	5,458	3,06
	57	4,365	4,87
	65	7,953	7,10
	69	7,481	5,14
	86	6,94	5,15
	93	12,017	8,87
	98	7,813	3,25
III	107	14,227	8,12
	111	15,870	14,84
	118	28,571	21,05
	128	67,62	58,41
	135	63,430	61,23
IV	139	49,95	43,05
	142	61,680	49,86
	149	47,54	48,61
	156	34,679	20,18
	163	13,290	0,62
	168	22,05	8,91
	170	39,210	22,08
	175	65,010	34,31
	177	41,60	24,29
	181	23,206	12,26

Tabela A.6 – Valores de LAS acumulado e eficiência de remoção

Fases de operação	Número de bateladas	Af (mg)	Af _{acum} ⁽¹⁾ (mg)	Ef (mg)	Ef _{acum} ⁽²⁾ (mg)	Massa de LAS removida (mg)	Eficiência de remoção (%)
II	41	5,08	5,08	0,03	0,03	5,05	99,41
II	44	14,16	29,40	8,31	8,40	21,00	71,42
II	49	25,00	116,44	12,63	56,43	60,01	51,54
II	51	29,76	171,20	18,14	87,20	84,00	49,07
II	55	27,29	287,77	9,17	150,78	136,99	47,60
II	57	21,83	336,88	14,60	174,55	162,33	48,19
II	65	39,77	565,30	21,31	311,49	253,81	44,90
II	69	37,41	722,00	15,43	390,86	331,15	45,87
II	76	29,67	960,62	19,10	509,88	450,73	46,92
II	79	23,30	1043,24	17,41	565,50	477,74	45,79
II	83	19,18	1132,30	13,37	631,11	501,20	44,26
II	86	34,69	1205,34	15,46	673,30	532,04	44,14
II	93	60,09	1498,93	26,61	803,81	695,13	46,37
II	98	39,07	1767,83	9,74	911,57	856,26	48,44
II	104	22,50	1960,81	17,06	988,31	972,50	49,60
III	107	71,14	2076,94	24,37	1046,78	1030,16	49,60
III	111	79,35	2369,70	44,53	1164,41	1205,28	50,86
III	114	134,62	2663,01	53,85	1307,32	1355,69	50,91
III	118	142,86	3209,71	63,16	1532,02	1677,69	52,27
III	125	269,90	4527,31	204,51	2327,51	2199,80	48,59
III	128	338,10	5405,21	175,23	2911,76	2493,45	46,13
III	132	309,75	6729,26	196,65	3634,10	3095,16	46,00
III	135	317,15	7665,91	183,69	4211,09	3454,82	45,07
IV	139	249,75	8867,11	129,15	4891,31	3975,80	44,84
IV	142	308,40	9675,01	149,58	5299,19	4375,82	45,23
IV	147	185,00	11031,91	137,79	6029,40	5002,50	45,35
IV	149	237,70	11454,61	145,83	6313,02	5141,58	44,89
IV	156	173,40	12957,75	60,54	7395,48	5562,26	42,93
IV	163	66,45	13904,15	1,86	7672,56	6231,58	44,82
IV	168	110,25	14302,10	26,73	7725,96	6576,14	45,98
IV	170	196,05	14608,40	66,24	7818,93	6789,47	46,48
IV	175	325,05	15782,15	102,93	8205,16	7576,98	48,01
IV	177	208,00	16315,20	72,87	8380,96	7934,23	48,63
IV	181	116,03	17055,23	36,77	8636,34	8418,89	49,36

⁽¹⁾Valores afluentes acumulados⁽²⁾Valores efluentes acumulados

Sendo que,

$$Af_{acum} [\text{mg}] = Af [\text{mg/L}] * 5 \text{ L}$$

$$Ef_{acum} [\text{mg}] = Ef [\text{mg/L}] * 3 \text{ L}$$

Para o cálculo dos valores de afluente acumulado multiplicou-se por 5 L a concentração de LAS afluente, pois as amostras caracterizadas como afluente foram retiradas de dentro do reator ASBR logo após a entrada da alimentação e 5 L é o valor do volume útil. Os valores de efluente acumulado multiplicaram-se por 3 L, pois esta é a quantidade de efluente descartado a cada ciclo de operação.

Tabela A.7 – Massa de LAS adsorvida nas amostras de lodo do ASBR

Etapa	Dias de operação	Adsorvido							
		Conc. ⁽¹⁾ (mg LAS/L) 1:10	Massa de lodo real analisada (g)	Volume ⁽²⁾ (mL)	mg LAS/g ST	ST (g/L)	g ST p/ 5 L	Massa adsorvida (mg LAS)	
II	49	4,676	46,76	0,336	41,0	5,71	10,0	50,21	286,46
II	55	13,630	136,30	0,631	39,8	8,60	9,1	45,34	389,77
II	65	15,682	156,82	0,464	37,5	12,67	8,3	41,53	526,38
II	69	10,834	108,34	0,500	39,0	8,45	7,6	38,10	322,00
II	79	6,102	61,02	0,370	38,5	6,35	6,1	30,44	193,29
II	93	9,376	93,76	0,326	37,0	10,64	6,3	31,44	334,54
II	98	9,728	97,28	0,269	38,0	13,74	5,4	27,03	371,51
III	114	14,128	141,28	0,182	37,5	29,11	4,9	24,35	708,91
III	128	15,382	153,82	0,233	40,5	26,74	4,4	21,78	582,38
III	135	17,529	175,29	0,250	41,0	28,75	5,2	25,95	746,11
IV	142	11,092	110,92	0,267	39,0	16,20	5,1	25,67	415,89
IV	168	17,058	170,58	0,167	35,0	35,75	5,8	29,02	1037,59
IV	181	6,648	66,48	0,224	38,8	11,52	3,0	15,23	175,39

⁽¹⁾ Valores de concentração de LAS determinados por CLAE existentes nas amostras de lodo analisadas

⁽²⁾ Volume das soluções de LAS retirado das amostras de lodo por meio de banho ultra-som

Sendo que,

$$\text{mg LAS/g ST} = \text{Conc.}^{(1)} \text{ real [mg LAS/L]} * \text{Volume}^{(2)} [\text{L}] / \text{Massa de lodo analisada [g]}$$

$$\text{Massa adsorvida [mg LAS]} = (\text{mg LAS/g ST}) * (\text{g ST p/ 5 L})$$

Tabela A.8 – Valores de LAS acumulado e eficiência de degradação

Fases de operação	Número de bateladas	Af (mg)	Af _{acum} (mg)	Ef (mg)	Ef _{acum} (mg)	Adsorvido (mg)	Massa de LAS degradada (mg)	Eficiência de degradação (%)
II	49	25,00	116,44	12,63	56,43	286,46	-226,45	-194,49
II	55	27,29	287,77	9,17	150,78	389,77	-252,78	-87,84
II	65	39,77	565,30	21,31	311,49	526,38	-272,57	-48,22
II	69	37,41	722,00	15,43	390,86	322,00	9,15	1,27
II	79	23,30	1043,24	17,41	565,50	193,29	284,45	27,27
II	93	60,09	1498,93	26,61	803,81	334,54	360,58	24,06
II	98	39,07	1767,83	9,74	911,57	371,51	484,75	27,42
III	114	134,62	2663,01	53,85	1307,32	708,91	646,78	24,29
III	128	338,10	5405,21	175,23	2911,76	582,38	1911,07	35,36
III	135	317,15	7665,91	183,69	4211,09	746,11	2708,71	35,33
IV	142	308,40	9675,01	149,58	5299,19	415,89	3959,92	40,93
IV	168	110,25	14302,10	26,73	7725,96	1037,59	5538,55	38,73
IV	181	116,03	17055,23	36,77	8636,34	175,39	8243,50	48,33

Sendo que,

$$\text{Massa de LAS degradada [mg]} = \text{Af}_{\text{acum}} [\text{mg}] - (\text{Ef}_{\text{acum}} [\text{mg}] + \text{Adsorvido} [\text{mg}])$$