



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

JOELITHON DE LIMA COSTA

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE ALQUILBENZENO LINEAR SULFONADO (LAS)  
EM REATOR UASB EM ESCALA REAL E ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE  
DIFERENTES ACEPTORES DE ELÉTRONS**

Recife

2022

JOELITHON DE LIMA COSTA

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE ALQUILBENZENO LINEAR SULFONADO (LAS)  
EM REATOR UASB EM ESCALA REAL E ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE  
DIFERENTES ACCEPTORES DE ELÉTRONS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil. Área de Concentração: Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos.

**Orientador:** Prof. Dr. Mário Takayuki Kato.

**Coorientador:** Prof. Dr. Fabrício Motteran.

Recife

2022

Catálogo na fonte:  
Bibliotecária Sandra Maria Neri Santiago, CRB-4 / 1267

C837a

Costa, Joelithon de Lima.

Avaliação da remoção de Alquilbenzeno Linear Sulfonado (LAS) em reator UASB em escala real e estudo da influência de diferentes aceptores de elétrons / Joelithon de Lima da Costa. – 2022.

114 f.: il., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Mário Takayuki Kato.

Coorientador: Prof. Dr. Fabrício Motteran.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Recife, 2022.

Inclui referências e apêndices.

1. Engenharia civil. 2. Surfactante aniônico. 3. Reator UASB. 4. Aceptor de elétrons. 5. Sequenciamento do gene 16S rRNA. 6. *Clostridium*. I. Kato, Mário Takayuki (Orientador). II. Motteran, Fabrício (Coorientador). III. Título.

JOELITHON DE LIMA COSTA

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE ALQUILBENZENO LINEAR SULFONADO (LAS)  
EM REATOR UASB EM ESCALA REAL E ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE  
DIFERENTES ACCEPTORES DE ELÉTRONS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil. Área de concentração: Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos.

Aprovada em: 23/02/2022.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Fabrício Motteran (Coorientador)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dra. Sávia Gavazza dos Santos Pessôa (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dra. Shyrlane Torres Soares Veras (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco

À minha família, fonte incondicional de apoio, afeto e inspiração, eu dedico.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e ao universo por regirem a vida na forma que é e por me permitir chegar tão longe nessa caminhada. Agradeço imensamente aos meus pais Keyla Costa e Sérgio Costa pela incansável luta deles durante toda a minha vida para garantir que eu alcançasse tudo aquilo que almejasse. Vocês são exemplos de seres humanos e me guiam dia a dia para ser alguém melhor. À minha irmã Ana Caroline Costa por ser minha melhor amiga e melhor companheira em todos os momentos, do momento em que ela nasceu até o fim das nossas vidas.

Ao meu orientador professor Mario Kato, muito obrigado por todo conhecimento passado e pelo apoio durante a pesquisa. Foi uma experiência inigualável poder aprender com o senhor. Ao meu coorientador professor Fabrício Motteran por toda a paciência, parceria e ensinamentos que foram desde o desenvolvimento da pesquisa até pequenas atividades de bancada de laboratório. À Nathália Bomfim pela amizade, parceria, ajuda e ideias divididas ao longo do desenvolvimento desta pesquisa. A Luiz Galdino por todas as contribuições feitas ao trabalho.

Aos amigos e companheiros de bancada de laboratório Tatiane Chaves, Jucélia Tavares, Devson Paulo, Marília Marques, Sayonara Costa, Henrique César, Elissandra Cheu, Antônio Gustavo e Talita Marinho, obrigado por estarem sempre disponíveis para ajudar. Aos técnicos Danúbia Freitas, Iago Silva e Ronaldo Fonseca, meu muito obrigado por sempre estarem de prontidão e dispostos a contribuir com as pesquisas. Aos professores Lourdinha Florêncio, Sávia Gavazza, Wanderli Leite, Bruna Soares e Bruna Scandolara por todo o conhecimento passado. Agradeço também aos demais integrantes do Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) e Laboratório de Biologia Molecular e Tecnologia Ambiental (LABIOTA), locais onde foi possível desenvolver o presente trabalho.

Agradeço aos meus amigos/irmãos e companheiros de caminhada na vida acadêmica Luttemberg Ferreira, Neto Oliveira, Marcos Ribeiro e Eduardo Medeiros. Espero que mesmo se um dia trilharmos caminhos distantes que o sentimento de família permaneça em todos os nossos encontros.

Finalmente agradeço à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia (FACEPE) por fornecer a bolsa de mestrado que tornou possível que o presente trabalho fosse desenvolvido com total dedicação.

## RESUMO

O alquilbenzeno linear sulfonado (LAS) é um surfactante aniônico empregado em diversos produtos de limpeza e cuidados pessoais. Apesar da sua biodegradabilidade, seu excesso nos recursos hídricos tem resultado em problemas ambientais. Dessa forma, o presente trabalho se dividiu em dois estudos visando avaliar a biodegradação anaeróbia desse composto. O primeiro estudo se objetivou em avaliar a remoção do LAS em estação de tratamento de esgotos domésticos (ETE Mangueira). No qual foram avaliados dois períodos climáticos (chuvoso e seco). Em cada período foram coletadas diariamente amostras de quatro pontos: o afluente ao reator UASB (P1), efluente da célula 2 do UASB (P2), efluente final do UASB (P3) e efluente da lagoa de polimento (P4). A caracterização do esgoto para matéria orgânica o classificou como esgoto diluído com concentrações de 208 e 123 mg/L de matéria orgânica para os períodos chuvoso e seco, respectivamente. No reator UASB foi observada eficiência negativa de remoção de LAS com média de -30% entre os períodos. Enquanto que na lagoa de polimento observou-se uma eficiência de remoção próxima de 90% nos dois períodos. Concluiu-se que os eventos de chuva influenciaram na diluição do esgoto, devido a infiltração das águas pluviais nos sistemas de esgotamento sanitário. O aumento da concentração do surfactante após o UASB foi atribuído a dessorção do LAS adsorvido à biomassa. O segundo estudo teve como objetivo avaliar a influência de nitrato, sulfato e ferro como aceptores de elétrons na degradação anaeróbia do LAS. Para isso, inoculou-se reatores de 500 mL com biomassa, nutrientes, LAS (20 mg/L) e um dos aceptores de elétrons. Foi analisada também a influência da adição de etanol como cosubstrato. Avaliou-se a influência do nitrato, sulfato e ferro sem e com a adição do etanol. Ao final do experimento, todos os tratamentos apresentaram eficiências de degradação de LAS superiores a 65%. Os tratamentos sem etanol apresentaram os melhores resultados para a degradação do LAS, sendo o tratamento com ferro, com eficiência de 94%, o mais elevado do experimento. A avaliação da diversidade microbiana mostrou que os gêneros que se destacaram foram *Clostridium*, *Azospira*, *Bacillus* e *Alkaliphilus*. A partir dos resultados, concluiu-se o tratamento com ferro apresentou a melhor eficiência de remoção do LAS devido a sua dupla funcionalidade como acceptor de elétrons e componente essencial de enzimas celulares. Já a avaliação da diversidade microbiana apontou diversos gêneros potencialmente envolvidos na degradação de LAS por apresentaram elevados valores de abundância relativa.

**Palavras-chave:** surfactante aniônico; reator UASB; aceptor de elétrons; sequenciamento do gene 16S rRNA; *Clostridium*.

## ABSTRACT

Linear alkylbenzene sulphonate (LAS) is an anionic surfactant applied in several cleansing and personal care products. Despite its biodegradability, its excess in water resources has resulted in environmental problems. Thus, the present work was divided into two studies aiming to evaluate the anaerobic biodegradation of this compound. The first study aimed to evaluate the removal of LAS in a domestic wastewater treatment plant (WWTP Mangueira). In which two climatic periods (rainy and drought) were evaluated. In each period, samples were collected daily from four points: the influent to the UASB reactor (P1), effluent from cell 2 of the UASB (P2), final effluent from the UASB (P3) and effluent from the polishing pond (P4). The characterization of the sewage for organic matter classified it as diluted sewage with concentrations of 208 and 123 mg/L of organic matter for the rainy and dry seasons, respectively. In the UASB reactor, negative LAS removal efficiency was observed with an average of -30%. While in the polishing pond, a removal efficiency close to 90% was observed in both periods. It was concluded that the rain events influenced the sewage dilution, due to the infiltration of rainwater in the sanitary sewage systems. The increase in surfactant concentration after UASB was attributed to the desorption of LAS adsorbed to the biomass. The second study aimed to evaluate the influence of nitrate, sulfate and iron as electron acceptors in the anaerobic degradation of LAS. For this, 500 mL reactors were inoculated with biomass, nutrients, LAS (20 mg/L) and one of the electron acceptors. The influence of the addition of ethanol as a co-substrate was also analyzed. The influence of nitrate, sulfate and iron was evaluated without and with the addition of ethanol. At the end of the experiment, all treatments showed LAS degradation efficiencies greater than 65%. The treatments without ethanol presented the best results for the degradation of the LAS, being the treatment with iron, with efficiency of 94%, the highest of the experiment. The evaluation of microbial diversity showed that the genera that stood out were *Clostridium*, *Azospira*, *Bacillus* and *Alkaliphilus*. From the results, it was concluded that the iron treatment showed the best LAS removal efficiency due to its dual functionality as an electron acceptor and an essential component of cellular enzymes. The evaluation of microbial diversity indicated several genera potentially involved in the degradation of LAS because they presented high values of relative abundance.

**Key-words:** anionic surfactant; UASB reactor; electron acceptor; 16S rRNA gene sequencing; *Clostridium*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Etapas da digestão anaeróbia	19
Figura 2 -	Estrutura molecular dos surfactantes	22
Figura 3 -	Estrutura molecular do LAS	23
Figura 4 -	Estrutura molecular do alquilbenzeno sulfonato	23
Figura 5 -	Etapas de degradação aeróbia do LAS	26
Figura 6 -	Etapas de degradação anaeróbia de LAS proposta por Mogensen e Ahring (2002)	27
Figura 7 -	Etapas de degradação anaeróbia de LAS proposta por Lara-Martín et al. (2010)	28
Figura 8 -	Média mensal de precipitação do período entre 2011 e 2020	35
Figura 9 -	Esquema das etapas da ETE Mangueira e localização dos pontos de coleta	35
Figura 10 -	Amostrador automático: (a) estrutura de proteção, (b) equipamento, (c) controle e programação e (d) espaço para armazenamento das amostras	36
Figura 11 -	Boxplot dos resultados para (a) pH e (b) condutividade elétrica	43
Figura 12 -	Boxplot dos resultados para sólidos dissolvidos	43
Figura 13 -	Boxplot dos resultados para matéria orgânica	45
Figura 14 -	Boxplot dos resultados para dureza	45
Figura 15 -	Boxplot dos resultados para (a) nitrogênio total e (b) amoniacal	46
Figura 16 -	Boxplot dos resultados para nitrato	47
Figura 17 -	Boxplot dos resultados para (a) fósforo total e (b) ortofosfato	48
Figura 18 -	Boxplot dos resultados para sulfato	49
Figura 19 -	Boxplot dos resultados para LAS	50
Figura 20 -	Componentes adicionados nos reatores durante sua montagem	59
Figura 21 -	Condição visual dos reatores ao final do experimento	67
Figura 22 -	Consumo de nitrato nos tratamentos (a) N, (b) NE1, (c) NE2 e (d) NE3	71
Figura 23 -	Consumo de sulfato nos tratamentos (a) S, (b) SE1, (c) SE2 e (d) SE3	72
Figura 24 -	Consumo de ferro III (ferroso) nos tratamentos (a) F, (b) FE1, (c) FE2 e (d) FE3	73
Figura 25 -	Teor de LAS na fase líquida dos reatores durante a batelada nos tratamentos (a) sem e (b) com etanol	77

Figura 26 -	Balanço de massa de LAS nos tratamentos sem adição do co-substrato	79
Figura 27 -	Balanço de massa de LAS nos tratamentos com nitrato e o co-substrato	80
Figura 28 -	Balanço de massa de LAS nos tratamentos com sulfato e o co-substrato	81
Figura 29 -	Balanço de massa de LAS nos tratamentos com ferro e o co-substrato	82
Figura 30 -	Resultados do experimento abiótico para os reatores com etanol	84
Figura 31 -	Principais grupos de microrganismos identificados na biomassa após os tratamentos do experimento	86

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Alguns dos principais microrganismos envolvidos em cada etapa da digestão anaeróbia de compostos orgânicos	19
Tabela 2 -	Análises realizadas nas amostras líquidas	37
Tabela 3 -	Descrição qualitativa no ponto afluente ao reator UASB (P1)	40
Tabela 4 -	Descrição qualitativa no ponto efluente à célula 2 do UASB (P2)	41
Tabela 5 -	Descrição qualitativa no ponto efluente final do UASB (P3)	41
Tabela 6 -	Descrição qualitativa no ponto efluente à lagoa de polimento (P4)	42
Tabela 7 -	Balanço de massa de LAS ao longo da ETE, em quilos	51
Tabela 8 -	Médias diárias de eficiência de remoção de LAS na ETE-Mangueira	57
Tabela 9 -	Composição da solução de micronutrientes	57
Tabela 10 -	Composição da solução de macronutrientes	58
Tabela 11 -	Distribuição dos homólogos do LAS utilizado nos experimentos	59
Tabela 12 -	Resumo dos tratamentos aplicados aos reatores	60
Tabela 13 -	Composição da solução de AOV	62
Tabela 14 -	Análises realizadas no experimento	66
Tabela 15 -	Valores teóricos iniciais nos reatores e valores encontrados no reator sacrifício inicial	68
Tabela 16 -	Resultados de remoção de MO	69
Tabela 17 -	pH e potencial redox nos reatores ao final da batelada	74
Tabela 18 -	Concentração de AOV nos reatores ao final do experimento	71
Tabela 19 -	Abundância relativa nas amostras de biomassa de gêneros ausentes no inóculo após os tratamentos	91

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>17</b>
2.1	DIGESTÃO ANAERÓBIA	17
2.2	INFLUÊNCIA DE NUTRIENTES NA DIGESTÃO ANAERÓBIA	20
2.2.1	Nitrato	20
2.2.2	Sulfato	21
2.2.3	Ferro	21
2.3	SURFACTANTES	21
2.4	ALQUILBENZENO LINEAR SULFONADO (LAS)	22
2.4.1	Síntese e surgimento no mercado	23
2.4.2	Propriedades	24
2.4.3	Impactos ambientais	24
2.5	BIODEGRADAÇÃO DO LAS	25
2.5.1	Biodegradação aeróbia do LAS	26
2.5.2	Biodegradação anaeróbia do LAS	27
2.5.3	Toxicidade e efeito inibitório do LAS em sistemas de tratamento de esgotos	29
2.6	QUANTIFICAÇÃO E REMOÇÃO DE LAS EM ESCALA REAL	30
<b>3</b>	<b>REMOÇÃO DO ALQUILBENZENO LINEAR SULFONADO (LAS) EM ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO COM REATOR UASB EM PERÍODOS CLIMÁTICOS DISTINTOS</b>	<b>33</b>
3.1	OBJETIVOS	33
3.1.1	Objetivo geral	33
3.1.2	Objetivos específicos	33
3.2	MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.2.1	Local de realização do monitoramento	34
3.2.2	Pontos de amostragem e análises realizadas	34
3.2.2.1	Amostras líquidas	35
3.2.2.2	Quantificação de LAS	38
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.3.1	Avaliação descritiva dos pontos de coleta	39

<b>3.3.2</b>	<b>Avaliação comparativa entre os pontos de coleta</b>	<b>42</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Balanco de massa de LAS</b>	<b>50</b>
3.4	CONCLUSÕES	53
3.5	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	54
<b>4</b>	<b>INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE NITRATO, SULFATO E FERRO COMO ACEPTORES DE ELÉTRONS NA BIODEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DO ALQUILBENZENO LINEAR SULFONADO (LAS)</b>	<b>55</b>
4.1	OBJETIVOS	55
<b>4.1.1</b>	<b>Objetivo geral</b>	<b>55</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Objetivos específicos</b>	<b>55</b>
4.2	MATERIAIS E MÉTODOS	56
<b>4.2.1</b>	<b>Inóculo</b>	<b>56</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Solução de macro e micronutrientes</b>	<b>56</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Alquilbenzeno linear sulfonado</b>	<b>57</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Tratamentos aplicados aos reatores</b>	<b>58</b>
<b>4.2.5</b>	<b>Inoculação dos reatores anaeróbios em batelada</b>	<b>59</b>
4.2.5.1	Pré-tratamento e aclimação do inóculo	60
4.2.5.2	Montagem dos reatores	61
<b>4.2.6</b>	<b>Análises físico-químicas e cromatográficas</b>	<b>62</b>
4.3.6.1	Biologia Molecular	63
<b>4.2.7</b>	<b>Preparação das amostras e quantificação de LAS</b>	<b>63</b>
<b>4.2.8</b>	<b>Teste de adsorção com reatores abióticos</b>	<b>65</b>
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
<b>4.3.1</b>	<b>Reatores anaeróbios em batelada</b>	<b>66</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Avaliação dos reatores ao final do experimento</b>	<b>67</b>
4.3.2.1	Remoção de matéria orgânica	68
4.3.2.2	Potencial redox e pH	69
4.3.2.3	Consumo de nitrato, sulfato e ferro III	70
4.3.2.4	Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV)	73
4.3.2.5	Biogás no <i>headspace</i>	75
<b>4.3.3</b>	<b>Avaliação do LAS ao longo da batelada</b>	<b>76</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Balanco de massa de LAS</b>	<b>78</b>

<b>4.3.5</b>	<b>Experimento abiótico</b>	<b>83</b>
<b>4.3.6</b>	<b>Biologia molecular</b>	<b>85</b>
4.4	CONCLUSÕES	92
4.5	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	93
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>94</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>95</b>
	<b>APÊNDICE A – DIVERSIDADE MICROBIANA DO INÓCULO</b>	<b>110</b>
	<b>APÊNDICE B – DIVERSIDADE MICROBIANA NO TRATAMENTO CONTROLE</b>	<b>111</b>
	<b>APÊNDICE C – DIVERSIDADE MICROBIANA NO TRATAMENTO COM NITRATO</b>	<b>112</b>
	<b>APÊNDICE D – DIVERSIDADE MICROBIANA NO TRATAMENTO COM SULFATO</b>	<b>113</b>
	<b>APÊNDICE E – DIVERSIDADE MICROBIANA NO TRATAMENTO COM FERRO</b>	<b>114</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As cargas poluidoras que os corpos hídricos recebem são, em sua maioria, de impacto superior aquele nos quais esses recursos hídricos têm capacidade de assimilar. Como resultado desse processo diversas fontes de água, principalmente rios urbanos, recebem carga poluidora que deteriora a sua qualidade e prejudica seu ecossistema e os usos desses recursos. Os compostos orgânicos xenobióticos, que são compostos de difícil e/ou mais lenta degradação, são grandes causadores da poluição hídrica, uma vez que possuem propensão para se acumular no meio ambiente. Essa acumulação, por sua vez, pode apresentar efeitos tóxicos em diferentes espécies de organismos. Esses compostos comumente abrangem diversos agrupamentos químicos que surgem com frequência na indústria ou comércio.

Dentre os compostos xenobióticos, os surfactantes se destacam pela sua grande aplicabilidade devido as propriedades de solubilidade e limpeza. Eles fazem parte da composição de diversos produtos de limpeza e cuidados pessoais como detergentes, sabões em pó, shampoos, amaciantes, pastas de dente, além de outros produtos essenciais no dia a dia. No setor industrial eles são empregados na fabricação, por exemplo, de produtos agroquímicos e tintas (USEPA, 1997; IVANKOVIC; HRENOVIC, 2010). Devido a sua extensiva aplicabilidade na indústria e no comércio, os surfactantes se tornaram alvo de estudos visando o entendimento do seu potencial tóxico e acumulativo nos recursos ambientais.

O alquilbenzeno linear sulfonado (LAS) é um surfactante derivado do petróleo. Sua estrutura molecular é composta por um grupo sulfonil (grupo sulfato ligado a um anel aromático) de característica hidrofílica ligado a uma cadeia alquílica de característica hidrofóbica. Muito utilizado em produtos de limpeza, de cuidado pessoal e em diversos produtos industriais, esse surfactante representa, segundo Khleifat *et al.* (2008), aproximadamente 30% da produção e consumo mundial de surfactantes sintéticos. Por ser um composto xenobiótico, o LAS pode causar problemas em diferentes organismos presentes nos ecossistemas. Já foi apresentado na literatura os efeitos tóxicos do LAS nas brânquias de peixes, na retração da reprodução de invertebrados no solo, além do distúrbio causado no crescimento de algas (MUNGRAY; KUMAR, 2010; RENAUD *et al.*, 2011). Nos corpos hídricos o acúmulo de LAS pode resultar na formação excessiva de espuma. Essa espuma afeta diretamente a utilização das águas, além de dificultar a entrada de luz prejudicando o processo de fotossíntese das plantas no leito do corpo hídrico, que são grandes responsáveis pela inserção de oxigênio no meio. A degradação do LAS por vias aeróbias é bastante

discutida e já possui rotas bem definidas como apresentado Penteadó, El Seoud e Carvalho (2006). Por vias anaeróbias esse surfactante era dito, a princípio, de impossível degradação. Porém Lara-Martín *et al.* (2007, 2010) mostraram resultados que comprovaram degradação anaeróbia de LAS em sedimentos marinhos e propuseram uma rota de degradação composta por seguidas oxidações da cadeia alquílica, com posterior dessulfonação e quebra do anel aromático, com conseqüente mineralização do LAS. Apesar dessa rota proposta, muito se discute acerca da degradação anaeróbia primária do LAS, no qual a degradação não avança até a sua mineralização. Segundo Souza *et al.* (2016), o LAS gera metabólitos no seu processo de degradação que são de considerável recalitrância e toxicidade, assim o surfactante não é mineralizado.

A extensa aplicabilidade e o elevado consumo do LAS o tornam um composto de grande necessidade de estudo. Os seus impactos no meio ambiente requerem que os efluentes lançados nos corpos hídricos sejam eficientemente tratados diminuindo o impacto poluidor deste composto. Além disso, visto que nos sistemas anaeróbios a degradação do LAS é limitada, se faz necessário o avanço no desenvolvimento de tecnologias anaeróbias capazes de diminuir as concentrações de LAS nos esgotos até níveis não impactantes. E assim, evitar que ele se acumule nos ecossistemas. Dessa forma, a avaliação da remoção de LAS em uma estação de tratamento de esgoto (ETE) em escala real, além do estudo de potenciais mecanismos que possam influenciar na degradação do surfactante podem contribuir para o estudo da presença do composto no meio ambiente e também a sua remoção.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As discussões acerca da biodegradação anaeróbia de compostos recalcitrantes estão associadas às ideias fundamentais da digestão anaeróbia, além do estudo de fatores que a possam influenciar. Essas ideias e a fundamentação do composto avaliado no presente estudo estão apresentados nos tópicos a seguir.

### 2.1 DIGESTÃO ANAERÓBIA

A fundamentação da digestão anaeróbia se dá na degradação da matéria orgânica, particulada ou dissolvida, na ausência do oxigênio. Ao final do processo de mineralização dessa matéria orgânica, metano, água, dióxido de carbono, gás sulfídrico e amônia são principais produtos finais gerados. A eficiência da digestão anaeróbia está diretamente relacionada a boa interação entre os diversos microrganismos envolvidos, ou seja, de um mutualismo bem estabelecido. Visto que, ao contrário do que ocorre na digestão aeróbia, uma associação de microrganismos anaeróbios é necessária para transformar moléculas complexas de matéria orgânica nos produtos finais da digestão. Os produtos da degradação realizada em determinada etapa são utilizados como substrato por outros grupos microbianos, que por sua vez geram novos compostos mais simples como resultado de seu processo metabólico. E assim sucessivamente até que os produtos finais sejam gerados.

Para a ausência de oxigênio, outros aceptores de elétrons podem ser utilizados como é o caso do nitrato, sulfato e ferro (AQUINO; CHERNICHARO, 2005; CHERNICHARO, 2007). A presença do oxigênio pode ser tóxica para os microrganismos envolvidos no processo, para o caso dos anaeróbio estritos. Porém há também os microrganismos chamados anaeróbios facultativos que conseguem sobreviver em ambientes com baixos teores de oxigênio.

A anaerobiose é dividida em etapas, como: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. E como já citado anteriormente, qualquer desregulação de uma dessas etapas pode parar por completo o processo da digestão anaeróbia (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2011). Segundo Khanal (2009), quatro etapas podem ser definidas:

- Hidrólise: Nessa etapa bactérias fermentativas, por meio da ação de exoenzimas, degradam a matéria orgânica mais complexa para formas mais simples e dissolvidas. Como é o caso da conversão de polímeros (carboidratos, proteínas, entre outros) em monômeros

(aminoácidos, entre outros). A limitação dessa etapa se encontra na complexidade dos compostos a serem convertidos, pois quanto mais particulada é a matéria orgânica, mais difícil sua degradação pelos microrganismos hidrolíticos.

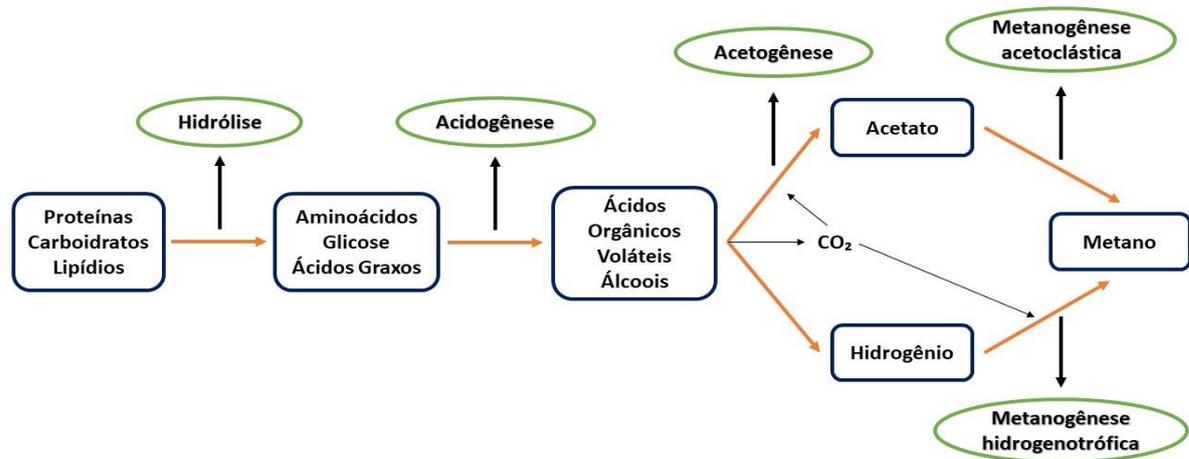
- Acidogênese: Os produtos da etapa da hidrólise são assimilados por bactérias anaeróbias, que são na sua grande maioria estritas, sendo convertidos em matéria orgânica mais simples e posteriormente liberados ao meio. No caso das bactérias anaeróbias facultativas esse processo ocorre pela via oxidativa. Entre os produtos dessa etapa podem-se citar os ácidos orgânicos de cadeia curta, álcoois, além do hidrogênio, dióxido de carbono, amônia e gás sulfídrico.

- Acetogênese: Os produtos da etapa de acidogênese, principalmente os ácidos propiônicos e butíricos, são convertidos a acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. As bactérias acetogênicas autotróficas utilizam o dióxido de carbono como fonte de carbono e o hidrogênio para produzir acetato, enquanto que as acetogênicas autotróficas utilizam os ácidos voláteis produzidos na acidogênese. Nessa etapa, pela grande produção de hidrogênio, é essencial o controle da pressão parcial do mesmo. O hidrogênio é consumido na próxima fase, a metanogênese, porém seu acúmulo resulta na queda do pH do sistema que inviabiliza essa fase final.

- Metanogênese: Essa etapa é exclusiva dos microrganismos estritamente anaeróbios, no qual os microrganismos metanogênicos convertem os produtos das etapas anteriores em metano. As archaeas metanogênicas acetoclásticas produzem metano a partir da redução do acetato e representam 70% do metano produzido. As archaeas metanogênicas hidrogenotróficas reduzem o dióxido de carbono como hidrogênio e representam aproximadamente 30% da produção de metano. Porém é interessante citar as archaeas metanogênicas metilotróficas, que catabolizam o metanol, as mono, di e trimetilaminas e o dimetil sulfeto. Como produtos finais dessa etapa além do metano, há o dióxido de carbono, hidrogênio e gás sulfídrico.

A Figura 1 apresenta resumidamente as etapas da digestão anaeróbia citadas anteriormente:

Figura 1 – Etapas da digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado de Khanal (2009).

Os principais grupos de microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia estão apresentados na Tabela 1. Pode-se observar que alguns deles, como é o caso dos grupo *Clostridium*, estão envolvidos em mais de uma etapa.

Tabela 1 – Alguns dos principais microrganismos envolvidos em cada etapa da digestão anaeróbia de compostos orgânicos

<b>Etapa</b>	<b>Grupos de microrganismos</b>
<b>HIDRÓLISE</b>	<i>Clostridium, Micrococcus, Staphylococcus, Bacteroides, Butyvirbio, Fusobacterium, Selenomonas, Streptococcus, Proteus, Peptococcus, Bacillus, Acetivibrius e Eubacterium.</i>
<b>ACIDOGÊNESE</b>	<i>Ruminococcus, Butyribacterium, Propionibacterium, Lactobacillus, Pseudomonas, Desulfobacter, Micrococcus, Bacillus, Escherichia, Eubacterium, Clostridium, Bacteroides e Streptococcus.</i>
<b>ACETOGÊNESE</b>	<i>Acetobacterium, Acetoanaerobium, Acetogenium, Butribacterium, Clostridium e Pelobacter.</i>
<b>METANOGÊNESE</b>	Archaeas Metanogênicas

Fonte: Abreu (2007) e Delforno *et al.* (2012).

## 2.2 INFLUÊNCIA DE NUTRIENTES NA DIGESTÃO ANAERÓBIA

Diversos fatores podem influenciar na digestão anaeróbia, dentre eles há a aplicação de nutrientes que possam servir como aceptores de elétrons nos processos bioquímicos, além de fazerem parte de componentes essenciais às células bacterianas como as enzimas. Dentre esses nutrientes, pode-se citar o nitrato e sulfato como macronutrientes e o ferro como um metal considerado micronutriente.

### 2.2.1 Nitrato

A principal forma de nitrogênio encontrado nos sistemas de tratamentos anaeróbios é o nitrogênio amoniacal. Ela pode ser produzida pela degradação de matéria orgânica nitrogenada ou pela redução do nitrato. E, apesar de ser componente essencial para os microrganismos, podem apresentar toxicidade capaz de inibir a metanogênese quando em concentrações superiores a 4 g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L (CHEN *et al.*, 2008; YENIGÜN *et al.*, 2013).

A nitrificação da amônia ocorre pela sua oxidação à forma de nitrito e posteriormente à nitrato. Esse processo ocorre pela atividade de microrganismos quimioautotróficos estritamente aeróbios. No meio anaeróbio o nitrato pode ser utilizado comoceptor de elétrons para oxidação da amônia. Esse processo é chamado de desnitrificação, no qual o nitrato é reduzido a nitrogênio gasoso (N<sub>2</sub>) que sai do efluente e representa a remoção de nitrogênio durante o processo de tratamento biológico das ETE. Os microrganismos desnitrificantes são anaeróbios capazes de sobreviver em ambientes com baixos teores de oxigênio, no qual utilizam o nitrato comoceptor de elétrons. O processo de redução da amônia em condições anaeróbias é chamado de ANAMMOX (TIEDJE, 1988; AHN, 2006).

O nitrato pode ter influência nos processos de fermentação e metanogênese na digestão anaeróbia. Uma das formas que essa influência pode ocorrer é pela competição pelos substratos que as bactérias redutoras de nitrato irão gerar. A outra forma de efeito seria a inibição das atividades metabólicas de alguns microrganismos pelos metabólitos do processo de desnitrificação (ROY; CONRAD, 1999). Sobre o potencial inibidor da presença de nitrato em digestores anaeróbios, Sheng *et al.* (2013) avaliaram a influência de amônia e nitrato no tratamento de resíduos alimentares. Os autores observaram que, em concentrações entre 100 e 750 mg N-NO<sub>3</sub>/L não resultaram em efeitos negativos na produção de biogás, apresentando na verdade um aumento de 11,8% comparado ao tratamento com ausência do nitrato. Porém concentrações maiores resultaram em uma queda abrupta na taxa de produção do biogás.

### 2.2.2 Sulfato

Nos ambientes anaeróbio, com a ausência de oxigênio, o sulfato pode ser utilizado como aceptor de elétrons nas reações metabólicas dos microrganismos. As bactérias que utilizam o sulfato dessa forma são as bactérias redutoras de sulfato (BRS) que, obtendo energia de um doador de elétrons, produz sulfeto de hidrogênio (ou gás sulfídrico). Esse gás tem potencial tóxico, gera odor e pode ser corrosivo em ferro e concreto (BOSHOF; DUNCAN; ROSE, 2004; KOSCHORRECK, 2008).

Quando há a presença de sulfato no meio anaeróbio, a metanogênese tende a ser diminuída pela competição por substratos em comum aos dois mecanismos, que são o hidrogênio, o dióxido de carbono e o acetato. As bactérias redutoras de sulfato são grandes consumidoras de hidrogênio no processo de degradação de ácidos orgânicos (MIZUNO; LI; NOIKE, 1997; ISA; GRUSENMEYER; VERSTRAETE, 1985).

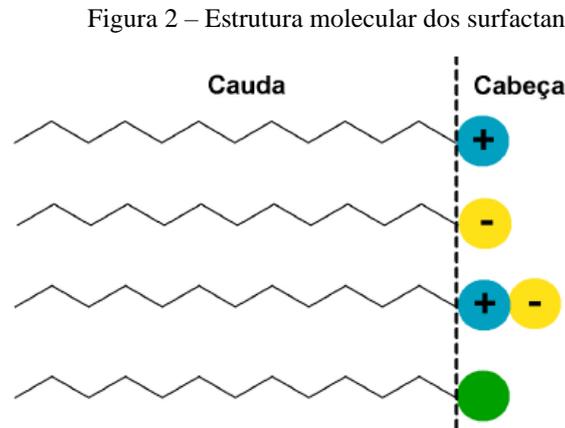
### 2.2.3 Ferro

O ferro é um micronutriente que faz parte do grupo chamado de metais de transição, estes que são considerados essenciais para os processos nutritivos dos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia. Esse metal recebe esse nome pois podem mudar de níveis de oxidação com certa estabilidade (MAIER *et al.*, 2009). A suplementação do ferro é bastante empregada pois demonstra ter participação na precipitação de sulfeto, evitando a geração de odores pela produção de gás sulfídrico. Além desse elemento contribuir como aceptor de elétrons de reações e na síntese de enzimas com papel essencial para a hidrogenase (MADIGAN *et al.*, 2004; GUSTAVSSON *et al.*, 2014).

## 2.3 SURFACTANTES

Também denominados de tensoativos, os surfactantes são compostos de característica de estrutura molecular anfifílica. Isto é, uma parte da sua molécula é hidrofílica e a outra parte é hidrofóbica. A parte hidrofílica é polar e é formada por uma ou duas cadeias carbônicas. Enquanto que a parte hidrofóbica é apolar pode ser formada por grupos iônicos, não iônicos ou anfóteros. A determinação do grupo que compõe a parte apolar do surfactante é usada para classifica-lo, podendo ser aniônico, catiônico, não iônico ou anfótero (FELIPE; DIAS, 2017).

A Figura 2 apresenta a estrutura da molécula de surfactante e as possibilidades de sua classificação.



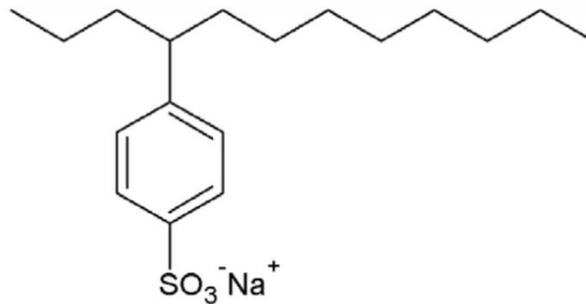
Fonte: Felipe e Dias (2017).

Quando presente no meio líquido por causa da propriedade anfifílica da sua molécula eles tendem a se concentrar na superfície água-ar. Essa maior concentração de tensoativos também pode ocorrer em outras superfícies como líquido-líquido e líquido-sólido (FELIPE; DIAS, 2017). Os surfactantes são aplicados nos setores comerciais e industriais, podendo atuar como lubrificantes, detergentes, dispersores, emulsificantes e umectantes ou de agentes de suspensão (DALTIM, 2014).

#### 2.4 ALQUILBENZENO LINEAR SULFONADO (LAS)

O alquilbenzeno linear sulfonado, ou LAS, é o surfactante sintético mais produzido e consumido do grupo dos aniônicos. Sua estrutura molecular, como apresentado na Figura 3, é composta por um grupo sulfonil (polar e hidrofílico) ligado a uma cadeia orgânica linear ou alquílica (apolar e hidrofóbica). Com a composição original de alquilbenzeno linear sulfonato de sódio, o LAS perde o íon de sódio quando dissolvido e fica carregado negativamente por causa do sulfato do grupo sulfonil, assim recebendo a classificação de surfactante aniônico. O LAS comercializado é uma mistura dos seus homólogos e isômeros. Os homólogos são determinados pela variação do número de carbonos na cadeia linear, variando geralmente entre 10 e 13 carbonos. Enquanto que os isômeros são determinados pela variação da posição a qual o grupo sulfonil está ligado à cadeia linear, com exceção das duas extremidades (ALMEIDA *et al.*, 1994; HERA, 2013).

Figura 3 – Estrutura molecular do LAS



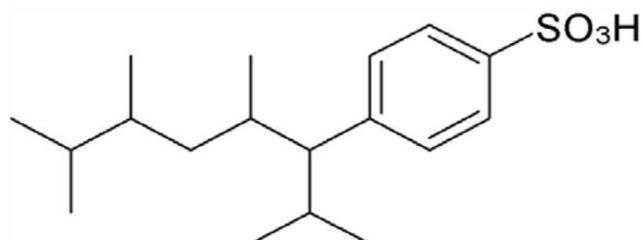
Fonte: O autor (2022).

O LAS é empregado em diversos produtos de limpeza e cuidado pessoal, todos considerados essenciais na rotina diária de qualquer pessoa. Esses produtos podem ser detergentes de louça, sabões em pé, amaciantes, pastas de dente, shampoos, condicionadores, amaciantes, entre outros (USEPA, 1997). Outras aplicações são apontadas para o grupo de surfactantes aniônicos como no comércio de cosméticos, na indústria farmacêutica para aumentar a eficiência do composto ativo de remédios, e também na remoção de produtos petroquímicos de solos contaminados (IVANKOVIC; HRENOVIC, 2010).

#### 2.4.1 Síntese e surgimento no mercado

O precursor do LAS é o alquilbenzeno sulfonato (ABS) que também é sintético e é produzido a partir do benzeno e propileno. Segundo Penteadó, El Seoud e Carvalho (2006) a sua aplicabilidade como detergente fizeram crescer exponencialmente seu consumo ao redor do mundo. Porém considerado de recalcitrância crítica e acumulativo no meio ambiente por causa dos carbonos quaternários presentes no grupo hidrofóbico (Figura 4), logo gerou diversos problemas ambientais. O principal problema causado pela acumulação era a formação de espumas densas que carregava consigo vários outros poluentes e causava a mortalidade de animais em ambiente aquático.

Figura 4 – Estrutura molecular do alquilbenzeno sulfonato



Fonte: O autor (2022).

A substituição do ABS pelo LAS veio pela necessidade gerada a partir da proibição da utilização do alquilbenzeno sulfonato em diversas partes do mundo. A cadeia linear da molécula do LAS o tornava muito mais degradável que o ABS, assim atribuindo-se a ele menor potencial poluidor.

### **2.4.2 Propriedades**

O LAS, como também outros surfactantes aniônicos tem grande sensibilidade às águas duras. Pois a água dura apresenta altas concentrações de cálcio e magnésio e que podem precipitar o surfactante pela neutralização da sua carga. Dessa forma, o parâmetro dureza é muito importante quando se avalia a presença de LAS em águas ou efluentes. Outra característica importante do LAS é a grande influência que ele recebe devido a presença de sais dissolvidos em um meio e também do pH (DALTIM, 2011).

Como todo surfactante, o LAS também possui como principal propriedade a sua capacidade de adsorção, estando essa característica ligada a várias de suas aplicações. A detergência promovida pela LAS, por exemplo, está intrinsecamente ligada à sua estrutura com parte polar e parte apolar (DALTIM, 2011). Geralmente quando se lava uma superfície suja se usa água e que, como grande parte dessas sujeiras presentes são polares, irão se dissolver nesse solvente e serão removidas. Porém existem sujeiras compostas por substâncias apolares como é o caso de óleos, gorduras e ceras. O contato entre as moléculas de LAS presentes na água e esse composto apolar irá fazer com que ele se adsorva por toda sua superfície, removendo-o assim de qualquer superfície e proporcionando uma maior mistura entre a água polar e a sujeira apolar.

### **2.4.3 Impactos ambientais**

Apesar de apresentar maior biodegradabilidade quando comparado ao seu precursor, o ABS, o excesso de LAS nos corpos hídricos é superior a capacidade de degradação pelos microrganismos. Esse excesso representa a acumulação do LAS e é geralmente ocasionado pelo lançamento de esgotos brutos ou tratados, mas que passaram por tratamentos com baixa eficiência na sua remoção.

Segundo Felipe e Dias (2017), o excesso de LAS em corpos hídricos superficiais resulta, além da formação de espumas, na diminuição da tensão superficial da água. Isso pode fazer com que ela perca oxigênio para a atmosfera de forma mais fácil e diminui sua taxa de

evaporação. A espuma formada, que se concentra na superfície, impede a passagem de luz que são essenciais para a fotossíntese de plantas presentes no leito desse corpo hídrico. Outro impacto importante está nos produtos aos quais o LAS faz parte da composição. Os detergentes fosfatados, por exemplo, são fontes importantes do fósforo que podem desencadear o processo de eutrofização pelo excesso desse nutriente nos recursos hídricos. Em ambientes aquáticos o LAS já foi apontado como danoso pela sua acumulação nas brânquias de peixes e também na diminuição da taxa de crescimento de animais invertebrados quando em concentrações de aproximadamente 1 mg/L e 60 mg/kg de matéria seca, respectivamente (MUNGRAY; KUMAR, 2011). No estudo de Renaud *et al.* (2011), os autores mostraram que o LAS é capaz de impossibilitar o desenvolvimento de diferentes espécies de algas por se adsorver nas suas superfícies.

## 2.5 BIODEGRADAÇÃO DO LAS

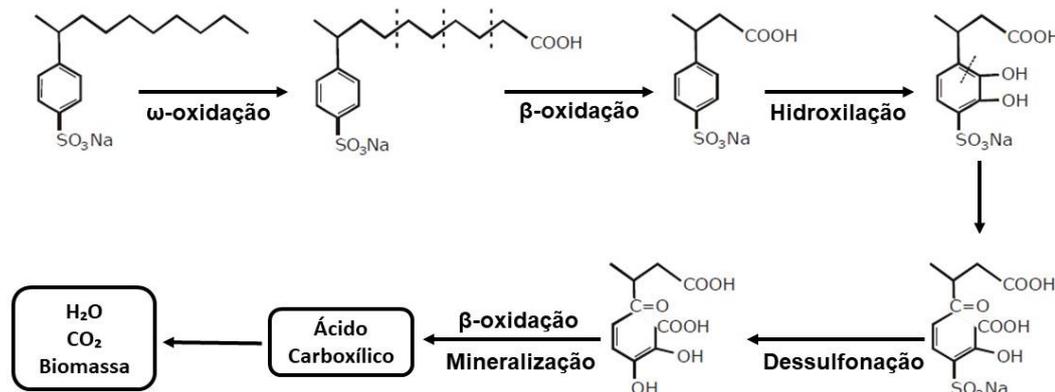
As rotas de degradação do LAS foram muito discutidas ao longo dos anos, sendo as rotas metabólicas aeróbias já bem definidas e com esses sistemas de tratamento atingindo eficiências de remoção acima de 98%. Apesar dessa alta remoção, também muito se discute sobre a biodegradação anaeróbia do LAS. Essa avaliação tem como algumas das justificativas o custo relacionado a aeração dos tanques e a alta taxa de reprodução dos microrganismos com conseqüente geração de lodo. Além disso, já foi destacado o potencial de formação excessiva de espumas nos esgotos durante o tratamento por causa da aeração.

Define-se como biodegradação primária aquela que a molécula de determinado composto sofre alteração na estrutura original, seja por oxidação ou ação de microrganismos. Para o caso do LAS, essa degradação representa a perda de sua propriedade tensoativa. Em contrapartida, essa degradação primária não representa a mineralização do composto, que só é alcançada com a sua conversão a gases como dióxido de carbono e metano, água, sais inorgânicos ou outros produtos das atividades metabólicas microbianas (ALMEIDA, 2014). Para os estudos de avaliação da sua degradação em sistemas anaeróbios, essa característica no LAS foi observada por causa da remoção no sistema que não foi acompanhada com aumento na produção de metano quando a concentração do surfactante foi aumentada.

### 2.5.1 Biodegradação aeróbia do LAS

Como já citado anteriormente, o LAS é quase completamente biodegradado em sistemas aeróbios. A degradação da molécula do LAS se inicia pelo grupo alquílico, pela oxidação do último grupo metila da molécula que ocorre por  $\omega$ -oxidação devido à ação de enzimas. Nesse início com mudança na estrutura forma-se um álcool, sendo convertido a aldeído e posteriormente a ácido carboxílico, chamado sulfofenil carboxilato (SPC). Após essa transformação ocorrem sucessivas  $\beta$ -oxidações que diminuem a cadeia linear. Essa etapa ocorre pela ação das enzimas alceno monooxigenase e dehidrogenase. O processo final de degradação do LAS se dá pela dessulfonação e quebra do anel aromático. A quebra do anel aromático permite que  $\beta$ -oxidações ocorram até a formação dos produtos finais como o dióxido de carbono, sais e água (PENTEADO; SEOUD; CARVALHO, 2006). As etapas da degradação aeróbia de LAS está apresentada na Figura 5.

Figura 5 – Etapas da degradação aeróbia do LAS



Fonte: Adaptado de Penteadó, El Seoud e Carvalho (2006).

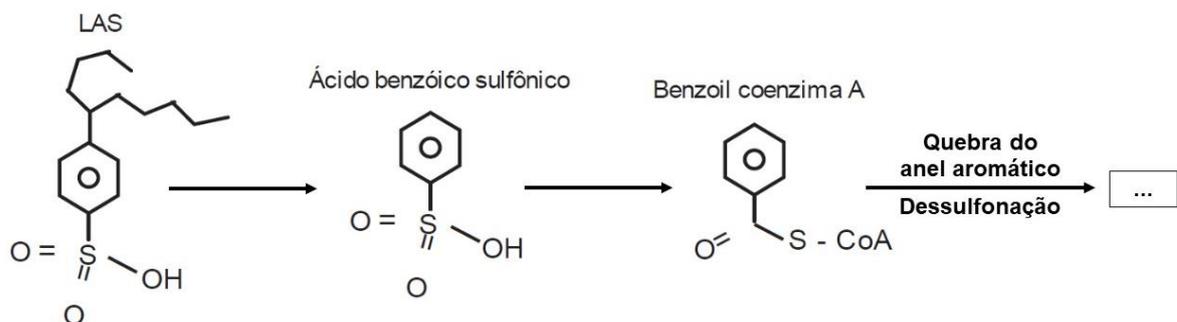
García-Luque *et al.* (2010) avaliaram a biodegradação aeróbia de LAS em água do mar com salinidade acima de 37, sendo essa a condição adversa. Os autores observaram eficiente e rápida degradação do LAS e dos seus metabólitos (SPCs), corroborando para a rota metabólica proposta em estudos anteriores. Também por causa dos baixos e indetectáveis valores de concentrações dos SPCs concluiu-se que o LAS foi mineralizado. Já León *et al.* (2006), avaliando a remoção de LAS por degradação em sistemas de tratamento a temperatura de 9 °C, também observaram alta eficiência na degradação do LAS após um período de adaptação. Ambos os estudos citados obtiveram eficiências de degradação de LAS acima de

98% e mostraram que a remoção do surfactante por vias aeróbias ocorre mesmo em situações adversas do ambiente.

## 2.5.2 Biodegradação anaeróbia do LAS

A princípio, a degradação do LAS por vias anaeróbias era dita como não viável. Porém a isso era também atribuído as altas concentrações avaliadas, que não apresentavam a realidade das concentrações observadas nos sistemas de tratamento de esgoto. Mogensen e Ahring (2002) utilizaram reator UASB para avaliar a biodegradação do LAS em concentração de 3  $\mu\text{mol/L}$ . Atribuindo a baixa concentração empregada, os autores observaram remoção de LAS de 33% afirmando não poder realizar melhor avaliação da degradação anaeróbia do surfactante. Porém, eles propuseram uma rota de degradação que consiste na formação de ácido benzoico sulfônico como metabólito, seguido de dessulfonação e quebra do anel aromático. Na Figura 6 está apresentada a rota de degradação e a formação do metabólito como propostos pelos autores.

Figura 6 - Etapas de degradação anaeróbia de LAS proposta por Mogensen e Ahring (2002)

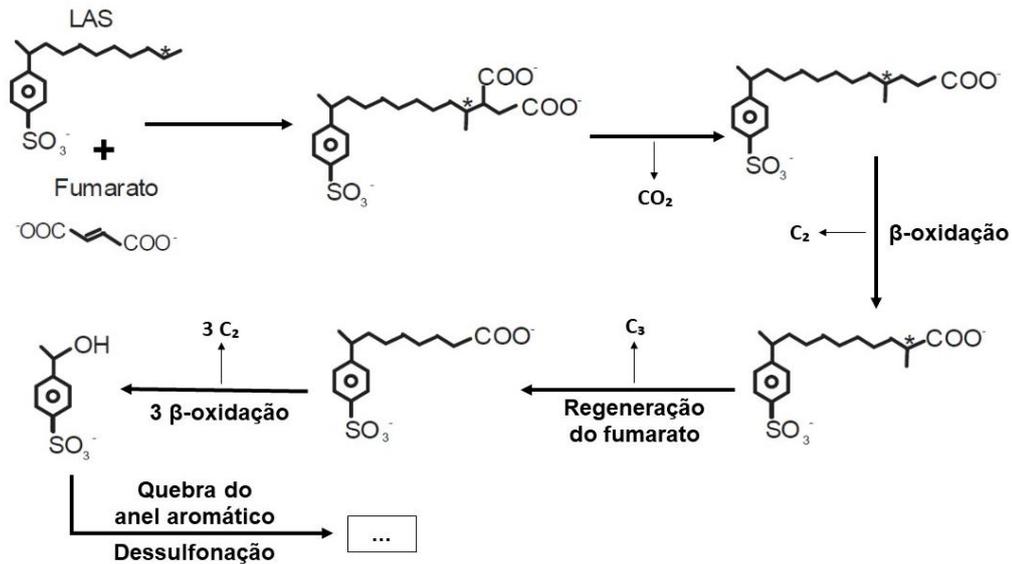


Fonte: Adaptado de Mogensen e Ahring (2002).

Avaliando a degradação anaeróbia de LAS em frascos em batelada, Lara-Martín *et al.* (2007, 2010) provaram pela primeira vez a conversão de LAS em ácidos sulfonil carboxílicos (SPC) em meio anaeróbio. Sendo esses os metabólitos iniciais da degradação anaeróbia do LAS, que por sua vez também são metabólitos gerados na degradação do LAS por vias aeróbias. Com as suas descobertas, os autores propuseram a seguinte rota de degradação (Figura 7): 1- Adição de uma molécula de fumarato à molécula de LAS formando ácidos dicarboxílicos; 2- Rearranjo da estrutura da cadeia alquílica do LAS; 3- Degradação da

cadeia alquílica formando ácidos carboxílicos; 4-  $\beta$ -oxidações sucessivas da cadeia alquílica com liberação de molécula de fumarato durante o processo; 5- dessulfonação; 6- quebra do anel aromático.

Figura 7 - Etapas de degradação anaeróbica de LAS proposta por Lara-Martín et al. (2010)



Fonte: Adaptado de Lara-Martín et al. (2010).

Ao longo dos anos diversas pesquisas avaliaram a remoção de LAS por biodegradação anaeróbica utilizando reatores UASB, *horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor* (HAIB) com poliuretano como material de suporte, *anaerobic sequencing batch reactor* (ASBR), *anaerobic fluidized-bed reactor* (AFBR) com areia como material de suporte e sistemas com lodo disperso (SANZ et al., 2003; DUARTE et al., 2010; OKADA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013; DUARTE et al., 2015; DUARTE et al., 2015; SILVA et al., 2017; ZHANG et al., 2020). Esses estudos atingiram eficiências de remoção de LAS por degradação que variaram de 30% a 91%. Porém, como apontado por Sanz et al. (2003), avaliando-se a produção de metano em sistema de tratamento onde atingiu-se 85% de eficiência de degradação do LAS, sugere-se que o LAS não chegou a ser mineralizado pela via anaeróbia.

A digestão de LAS envolvendo co-substratos também já foi bastante discutida nas pesquisas. Duarte et al. (2010) obteve eficiência de degradação de LAS de 40% na ausência de co-substrato, enquanto que na adição de extrato de carne, amido e sacarose essa eficiência caiu para 32%. Já Okada et al. (2013) mostrou que a adição de co-substrato mais complexo como o extrato de carne aumentou a eficiência da degradação de LAS quando comparado a

presença apenas de co-substratos mais simples como o etanol e metanol. Nesse contexto, Motteran *et al.* (2020) avaliou três diferentes co-substratos (acetato, formato e fumarato) na degradação do LAS e produção de metano. Dentre os co-substratos avaliados, os autores concluíram que o fumarato propiciou aumento da produção de metano, maior remoção do LAS por degradação e maior eficiência na remoção de matéria orgânica.

Com relação à diversidade microbiana envolvida na degradação do LAS por rota anaeróbia, Duarte *et al.* (2015) apontou as bactérias desnitrificantes como potenciais candidatas a microrganismos envolvidos nessa atividade. Já Carosia *et al.* (2014) relacionou os gêneros *Dechloromonas* e *Geobacter* à degradação de LAS por causa das suas presenças notórias no seu sistema de tratamento avaliado. Além das *Synergistetes*, que podem realizar  $\beta$ -oxidações em ambientes anaeróbios, e *Clostridium*, que são capazes de utilizar compostos aromáticos como fonte de enxofre. Braga *et al.* (2010) também avaliou a microbiota em sistemas de tratamento com foco na degradação de LAS e os autores identificaram a presença notória de *Desulfobulbus* que são bactérias redutoras de sulfato em condições anaeróbias e possuem enzimas capazes de quebrar anéis aromáticos.

### **2.5.3 Toxicidade e efeito inibitório do LAS em sistemas de tratamento de esgotos**

Estudos que avaliaram a biodegradação de LAS tanto em sistemas aeróbios como em anaeróbios já mostraram que o surfactante tem grande potencial tóxico e inibidor. Seja pela inibição da atividade metabólica dos microrganismos ou pela saponificação da biomassa com sua deterioração. O LAS quando em concentrações mais elevadas pode prejudicar o sistema de tratamento de forma geral.

Liwarska-Bizukojc e Bizukojc (2006) avaliaram o efeito de três surfactantes aniônicos diferentes, sendo um deles o dodecil benzeno sulfonato de sódio (homólogo do LAS com 12 carbonos na cadeia alquílica), nas características do lodo utilizado em tratamento aeróbio. Os autores observaram drástica mudança na estrutura do lodo com o aumento da concentração dos surfactantes. Diminuição do tamanho dos flocos e da concentração de SSV e aumento da regularidade dos flocos foram alguns dos efeitos da saponificação causada pelos surfactantes, além da diminuição da atividade da enzima desidrogenase. Os autores demonstraram que entre os surfactantes avaliados, o dodecil benzeno sulfonato de sódio obteve o maior efeito adverso. Wu *et al.* (2020) avaliaram o efeito do LAS na eficiência de remoção de outros poluentes em reatores sequenciais em batelada (SBR), que são a matéria orgânica (DQO), amônia e fosfato. Com este estudo foi observado a diminuição da remoção desses poluentes de 17%, 2% e 17%

de matéria orgânica, amônia e fosfato quando o sistema passou a receber de 10 para 50 mg LAS/L. Foi observado também a diminuição dos exopolissacarídeos (EPS), evidenciando a deterioração da biomassa causada pelo LAS com o arraste do lodo no efluente e assim resultando na queda de eficiência do tratamento.

Quanto a tratamentos anaeróbios, trabalhos já mostraram que o LAS inibe as atividades dos microrganismos acetogênicos e metanogênicos acetoclásticos. Esses estudos avaliaram a toxicidade do LAS pelo consumo de acetato e propionato e chegaram aos valores de IC50 de 27 e 14 mg LAS/L para a acetogênese e metanogênese, respectivamente. Sendo esses valores atribuídos a concentração efetiva de LAS, ou seja, aquela biodisponível na fase aquosa. A essa capacidade de inibição foi proposto que se deva a interação entre a molécula do LAS e a membrana celular das bactérias, prejudicando o transporte de nutrientes e substrato (GAVALA; AHRING, 2002; MÖSCHE; MEYER, 2002).

Quando avaliado o potencial inibidor do LAS pela produção de metano, Garcia *et al.* (2006) também chegou ao IC50 de 14 mg LAS/L para concentração efetiva do surfactante. Já Souza *et al.* (2016), também avaliando a produção de metano na presença do LAS, encontrou IC50 de 35 mg LAS/L pois avaliou pelas concentrações nominais nos tratamentos empregados. Além disso, os autores observaram queda da atividade específica metanogênica na faixa de 30 a 97% na variação da concentração de LAS entre 30 e 100 mg/L, respectivamente. Garcia *et al.* (2005) verificaram que quanto maior o homólogo do LAS maior é sua toxicidade, porém também destacou que não há diferença no potencial tóxico para diferentes isômeros do mesmo homólogo. Os autores avaliaram esse efeito na produção de metano e também com a utilização de bioindicador (*Daphnia magna*), mostrando que nas duas avaliações o comportamento da toxicidade dos diferentes homólogos é similar.

## 2.6 QUANTIFICAÇÃO E REMOÇÃO DE LAS EM ESCALA REAL

Avaliar a presença de LAS em sistemas de tratamento de efluentes em escala real tem o propósito de indicar quais as reais concentrações do surfactante observadas nos esgotos. Levando em consideração também quais cargas de LAS esses sistemas de tratamentos são submetidos. Alguns autores relatam que pesquisas realizadas em laboratório tendem a superestimar as concentrações de LAS avaliadas, uma vez que em escala real as concentrações nos esgotos sanitários domésticos são mais baixas. Devido aos processos de diluição e auto depuração.

As águas cinzas são a parcela do esgoto doméstico provenientes das máquinas de lavar roupas ou pratos, pias de banheiros e cozinhas, excluindo-se o efluente gerado nas bacias sanitárias. Essas águas tem menor carga orgânica por causa da ausência de fezes, urina ou outros dejetos. Em contrapartida, a concentração de sabões e detergentes é bastante elevada, consequentemente representado alta concentração de LAS (ORON *et al.*, 2014). Shaikh e Ahammed (2020) mostraram que a concentração de LAS no efluente de banheiros, cozinhas e lavanderias residenciais podem variar de 15 a 78, 7 a 87 e 9 a 118 mg LAS/L, respectivamente. Esses altos valores são direcionados às estações de tratamentos e com o seu potencial inibidor e a menor degradação observada em sistemas anaeróbios podem resultar na acumulação desse poluente nos corpos hídricos.

Bonfim *et al.* (2016), avaliando a concentração de LAS no afluente de uma ETE localizada na cidade de Recife-PE, observou concentração média de 6,2 e 2,7 mg LAS/L para período seco e chuvoso, respectivamente. A diferença entre os valores nos diferentes períodos climáticos está relacionada a maior diluição dos esgotos com a infiltração de águas pluviais e na diminuição de atividades domésticas devido às chuvas, como a lavagem de roupas. Silva *et al.* (2017) avaliou outro período na mesma ETE citada e encontrou valores similares de LAS no afluente. No lodo do reator UASB foi observada concentração na faixa de 3 a 4 mg LAS/g lodo. Os autores observaram eficiência de remoção de LAS no reator UASB de 40% e eficiência global da ETE que variou entre 60% e 75%. Esse mesmo estudo também quantificou o LAS no corpo receptor do efluente da ETE, identificando concentrações nas águas na faixa de 0,8 a 3,5 mg LAS/L e nos sedimentos do rio inferiores a 0,4 mg LAS/g sedimento.

Avaliando apenas em lodos de sistemas de tratamento de esgoto, Cantarero *et al.* (2011) coletou amostras de ETES de diferentes regiões da Espanha. As amostras de lodo eram de diferentes sistemas de tratamento, incluindo aeróbio, anaeróbio, estabilização química, entre outros. O maior valor encontrado foi em sistema de tratamento anaeróbio com concentração de 26,3 mg LAS/kg lodo. As menores concentrações foram observadas em lodos de tratamentos aeróbios. Ainda para lodos anaeróbios, que geralmente apresentam maiores concentrações de LAS, Mungray e Kumar (2008) observaram na avaliação de lodos de reatores UASB uma concentração média de 7347 mg LAS/kg lodo.

A importância de também se avaliar a concentração de LAS nos lodos está relacionada a destinação final desse resíduo. Lodos anaeróbios são destinados a aterro ou podem ser reutilizados na agricultura. Porém esse reuso de lodo na agricultura pode ser um meio de carrear o LAS para o solo e possibilitar a sua acumulação em recursos hídricos subterrâneos

ou no próprio solo. Na União Europeia, por exemplo, existe um valor limite da concentração de LAS no lodo para aplicação no solo, que é de 2,6 g LAS/kg lodo seco (UNIÃO EUROPEIA, 2000). Em outro segmento, os lodos aeróbios geralmente são estabilizados em sistemas anaeróbios, destacando-se que a entrada de LAS nesses tratamentos não é apenas pelo afluente líquido, mas também pelo lodo aeróbio a ser tratado.

No Brasil não existe normativa que determine um limite para a concentração de LAS no lodo para reuso. No caso de efluentes líquidos, também não existem normas vigentes que limitem diretamente a concentração máxima de LAS nos próprios efluentes ou nos corpos hídricos receptores. No país o LAS é tratado pelas normas como substância ativa ao azul de metileno (MBAS) e a esse grupo é determinado um valor limite de 0,5 mg MBAS/L nos efluentes a serem lançados e nos próprios corpos receptores, independente da sua classificação quanto à resolução de classificação dos corpos hídricos superficiais (CONAMA, 2011; CONAMA, 2005). A problemática da utilização de MBAS ao invés de LAS está no fato de que não apenas essa substância se enquadra nesse grupo, dificultando o controle na inserção do surfactante em si no meio ambiente.

### **3 REMOÇÃO DO ALQUILBENZENO LINEAR SULFONADO (LAS) EM ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO COM REATOR UASB EM PERÍODOS CLIMÁTICOS DISTINTOS**

Essa parte do estudo focou em avaliar uma tecnologia de tratamento anaeróbio em escala real na remoção do LAS, além da avaliação do sistema de tratamento como um todo, com suas diferentes etapas. Avaliando também seu desempenho na remoção de matéria orgânica e nutrientes.

#### **3.1 OBJETIVOS**

##### **3.1.1 Objetivo geral**

Avaliar a eficiência do tratamento de esgoto na ETE Mangueira em termos de remoção de LAS, matéria orgânica e nutrientes em períodos climáticos distintos.

##### **3.1.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar o esgoto ao longo das etapas de tratamento da ETE em diferentes períodos climáticos.
- Avaliar a variação da qualidade do esgoto sendo tratado ao longo da ETE durante os dias da semana.
- Avaliar a influência dos diferentes períodos climáticos na remoção de matéria orgânica, nutrientes e LAS em diferentes pontos da estação de tratamento de efluente.
- Avaliar, a partir de balanço de massa, a eficiência de remoção do LAS no reator UASB e a eficiência global da estação de tratamento de efluente nos diferentes períodos climáticos.

## 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O local onde foi realizado o monitoramento, além de outras informações consideradas essenciais para o desenvolvimento do presente estudo estão apresentadas nos tópicos a seguir.

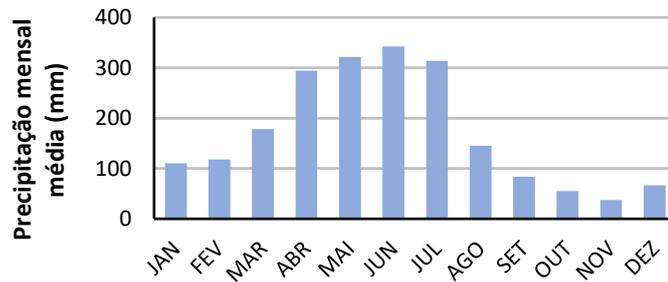
### 3.2.1 Local de realização do monitoramento

O monitoramento da qualidade do efluente foi realizado na Estação de Tratamento de Esgotos da Mangueira (ETE Mangueira), no bairro de mesmo nome localizado na cidade de Recife-PE. A ETE atende a demanda para tratar esgoto doméstico gerado no bairro da Mangueira e nos bairros vizinhos de San Martin e Mustardinha. As etapas de tratamento da estação são divididas em: tratamento preliminar, seguido com tratamento secundário com reator *upflow anaerobic sludge blanket* (UASB) dividido em 8 células similares operando em paralelo e seguido finalmente por tratamento com lagoa de polimento. O efluente da ETE Mangueira é lançado no rio Jiquiá que, por sua vez, é afluente do rio Tejupió.

### 3.2.2 Pontos de amostragem e análises realizadas

Foram avaliados dois períodos climáticos distintos para observar a influência da chuva nas características do esgoto afluente à ETE e a manutenção da eficiência do tratamento da estação, além da remoção de LAS. Para determinação desses períodos coletou-se dados pluviométricos do período de 10 anos (2011 a 2020) da estação pluviométrica da Agência Pernambucana de Águas e Clima (APAC) localizada no bairro da Várzea, bairro vizinho ao que a ETE está localizada. Na Figura 8 está apresentado as médias mensais desses dados e pode-se observar que os meses mais chuvosos são abril, maio, junho e julho, enquanto que os meses com menores volumes precipitados são setembro, outubro, novembro e dezembro. Dessa forma, escolheu-se o mês de julho como o representante do período climático chuvoso (inverno) e o mês de novembro como período seco (verão).

Figura 8 – Média mensal de precipitação do período entre 2011 e 2020

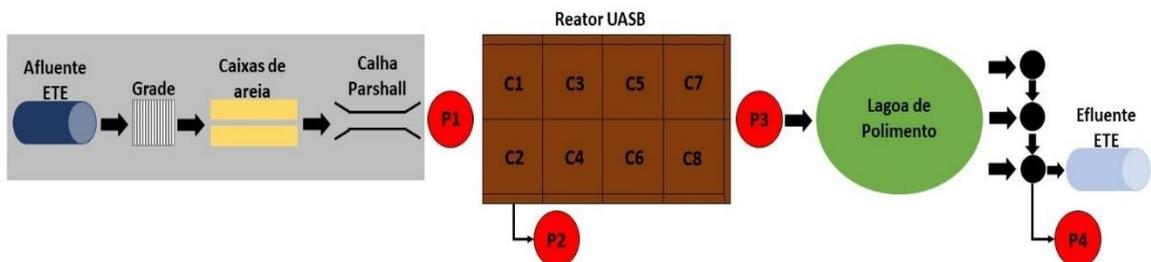


Fonte: O autor (2022).

### 3.2.2.1 Amostras líquidas

Os pontos de coleta foram distribuídos ao longo do sistema de tratamento da ETE (Figura 9), sendo eles: afluente do reator UASB (P1), efluente da célula 2 do reator UASB (P2), efluente final do reator UASB (P3) e efluente da lagoa de polimento (P4), sendo esse o efluente final da ETE.

Figura 9 - Esquema das etapas de ETE Mangueira e localização dos pontos de coleta



Fonte: O autor (2022).

As coletas nos pontos P1 e P2 foram realizadas utilizando um amostrador automático (6712 *Portable Samplers*, TELEDYNE ISCO). Ele foi programado para coletar a cada hora 500 mL de amostras que ficaram armazenada no interior do equipamento até a realização da coleta. No interior do equipamento haviam 24 garrafas posicionadas de forma que um braço mecânico rotatório colete as amostras horárias e as ponham na sua respectiva garrafa. A coleta começou às 0 horas da segunda para o ponto P1 e às 8 horas para o ponto P2, levando em consideração um tempo de detenção hidráulica (TDH) do reator de 8 horas.

O encerramento das coletas ocorreu às 23 horas do domingo para o ponto P1 e às 7 horas da segunda da semana seguinte para o ponto P2. Ambos os amostradores estavam

localizados na parte superior do reator UASB sob a proteção de uma estrutura para evitar possíveis danos (Figura 10a). Os equipamentos (Figura 10b) possuíam um controle para programação de suas ações (Figura 10c) e um compartimento para armazenamento das amostras, onde o braço mecânico rotatório com uma mangueira acoplada estava localizado junto com as 24 garrafas (Figura 10d).

Figura 10 - Amostrador automático: (a) estrutura de proteção, (b) equipamento, (c) controle e programação e (d) espaço para armazenamento de amostras



Fonte: O autor (2022).

As coletas amostras simples nos pontos P3 e P4 foram realizadas de forma única em cada dia do monitoramento. As amostras foram então transportadas em caixas térmicas para o Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) localizado no Centro de Tecnologia e Geociências (CTG) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Quando em laboratório, as amostras dos pontos P1 e P2 foram transformadas em amostras únicas diárias compostas pela mistura e homogeneização de 100 ml de cada amostra horária. Então foi analisado, de todas as quatro amostras, pH, condutividade elétrica (CE) e sólidos dissolvidos (SD) utilizando sonda multiparamétrica portátil da marca HACH e série HQ40d. Finalmente, as amostras foram armazenadas sob refrigeração até a realização das demais análises. Na Tabela 2 estão apresentadas as análises realizadas nas amostras líquidas, seguindo as metodologias de APHA (2012).

Tabela 2 - Análises realizadas nas amostras líquidas

<b>PARÂMETRO</b>	<b>METODOLOGIA</b>
pH	Sonda multiparâmetro
CE	Sonda multiparâmetro
Sólidos Dissolvidos	Sonda multiparâmetro
Matéria Orgânica (DQO)	Colorimétrica
Dureza Total	Titulométrica
Nitrogênio Total Kjeldhal (NTK)	Titulométrica
Nitrogênio Amoniacal	Titulométrica
Nitrato	Espectofotométrica
Sulfato	Turbidimétrica
Fósforo Total	Colorimétrica
Ortofosfato	Colorimétrica
LAS	HPLC

HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*  
DQO – Demanda Química de Oxigênio

Fonte: O autor (2022).

A avaliação de pH, condutividade elétrica, sólidos dissolvidos, NTK, nitrogênio amoniacal e nitrato foram realizadas durante o período de monitoramento, enquanto que as amostras para avaliação de sulfato, dureza, fósforo total e ortofosfato foram armazenadas sob refrigeração. As amostras para LAS foram preservadas adicionando-se formaldeído na

proporção 10% (v/v) da amostra. Esse método garante a preservação da amostra por até seis meses quando mantida sob refrigeração (APHA, 2012).

### 3.2.2.2 Quantificação de LAS

Alíquotas líquidas de 10 mL foram utilizadas para quantificação de LAS. Essas amostras foram colocadas em tubos plásticos de fundo cônicos de 50 mL para serem concentradas. Utilizou-se um concentrador da marca Genevac SP SCIENTIFIC, modelo EZ-2.3 Elite para este fim. Esse equipamento funcionava com uma centrífuga em sistema fechado com pressão reduzida a aproximadamente 1 mbar e temperatura mantida constante a aproximadamente 60°C. Foram necessários 3 horas e 30 minutos no concentrador para evaporação total das amostras.

Após o período no concentrador de amostras, o soluto residual foi então ressuspenso com 1 mL de solução de água e metanol na proporção 65:35 (v:v). Dessa forma, as amostras foram concentradas 10 vezes. Antes de serem injetadas no HPLC, as amostras foram filtradas em filtros de seringa com membrana de celulose com 0,45 µm de porosidade para evitar que interferentes ou sólidos finos possam prejudicar a análise ou danificar o cromatógrafo.

Para quantificação do LAS no HPLC foi utilizado a coluna analítica da Merck em fase reversa (RP) Lichrospher<sup>®</sup>RPC18 de 250 mm x 4,6 mm (diâmetro interno) x 5 µm. As fases móveis foram água com 5 mmol/L de ácido etanoico e 5 mmol/L de trietilamina (solvente A) e acetonitrila (solvente B) com vazão de 1 mL/min. Utilizou-se o detector UV-Vis em 230 nm e fluorescência em 230 nm (excitação) e 290 nm (emissão) com forno a temperatura a 40°C. Foi aplicado o gradiente na fase móvel entre os dois solventes utilizados da seguinte forma: iniciou-se com 70% do solvente A e 30% do solvente B até os 20 minutos do procedimento; dos 20 aos 34 minutos aplicou-se 40% do solvente A e 60% do solvente B; dos 34 aos 40 minutos (últimos 6 minutos do procedimento) voltou-se a aplicar 70% do solvente A e 30% do solvente B (SILVA *et al.*, 2017).

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a coleta e análises das amostras a caracterização do esgoto ao longo das etapas de tratamento foram comparadas entre os pontos de coleta e também entre os diferentes períodos climáticos avaliados. Além disso uma avaliação da remoção de matéria orgânica, nutrientes e LAS foi realizada na avaliação de comparação entre afluente e efluente à ETE.

#### 3.3.1 Avaliação descritiva dos pontos de coleta

A caracterização qualitativa dos pontos de coleta ajuda a ter noção de como o esgoto sendo tratado altera suas características ao longo da ETE quanto a importantes parâmetros de monitoramento. Levando em consideração que para cada ponto, foram coletadas amostras durante sete dias consecutivos, os aspectos desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) indicam o quanto as amostras variaram em relação à média e entre elas. Tratando-se sobre o CV, Gomes (1987) afirma que valores de CV abaixo de 10% indicam baixa variabilidade dos dados, enquanto que valores de CV acima de 20% indicam alta variabilidade dos dados. Essa classificação ajuda a definir quando as amostras diárias da semana avaliada variam muito entre si e em quais parâmetros isso ocorre.

Na Tabela 3 estão apresentados a média, o DP e o CV das coletas realizadas no ponto afluente ao reator UASB (P1). Em P1 os dados apresentaram grande variabilidade para nitrogênio amoniacal e LAS no período chuvoso e para matéria orgânica no período seco, com destaque para o último por causa do alto valor de CV. Isso pode ter ocorrido pois com as menores vazões desse período, o bombeamento funciona com menor frequência resultando na maior variação, visto que nesse ponto foram coletadas amostras horárias.

Tabela 3 – Descrição qualitativa no ponto afluente ao reator UASB (P1)

PARÂMETRO	Período Chuvoso			Período Seco		
	Média	DP	CV	Média	DP	CV
Matéria Orgânica (mg DQO/L)	208	34	16	123	44	35
pH	7,3	0,1	1	7,2	0,1	1
Condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	723	40	6	904	14	2
Sólidos Dissolvidos (mg SD/L)	367	22	6	442	6	1
Nitrogênio Total (mg N-NTK/L)	28	3	11	32	2	6
Nitrogênio Amoniacal (mg N-NH <sub>3</sub> /L)	17	4	21	23	1	4
Nitrato (mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L)	0,7	0,1	18	0,9	0,1	11
Dureza (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	116	3	2	138	6	4
Fósforo Total (mg PO <sub>4</sub> /L)	3,3	0,3	8	4,3	0,4	10
Ortofósforo (mg PO <sub>4</sub> /L)	1,9	0,3	15	3,1	0,4	12
Sulfato (mg SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> /L)	35	6	19	31	2	7
LAS (mg LAS/L)	1,8	0,5	27	2,7	0,5	19

Fonte: O autor (2022).

As características observadas para o esgoto bruto avaliado no ponto P1 o caracterizam como um esgoto diluído, visto que quando comparado a outras caracterizações realizadas em efluentes domésticos os valores encontrados na ETE Mangueira estão abaixo da faixa de valores relatada que varia geralmente de 500 a 1000 mg DQO/L (*et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2018; BARREIRO-VESCOVO *et al.*, 2021; PISHGAR *et al.*, 2021). Comparando os dois períodos avaliados, observa-se que apenas o teor de matéria orgânica em termos de DQO que apresentou diminuição significativa do seu valor quando comparado o período seco ao chuvoso. Esperava-se que, como no período seco houvesse menor infiltração de águas pluviais, as concentrações dos parâmetros aumentassem, o que não ocorreu para a matéria orgânica.

Na Tabela 4 estão apresentados a média, o DP e o CV das coletas realizadas no ponto efluente à célula 2 do UASB (P2). Para esse ponto os dados apresentaram alta variabilidade em ambos os períodos avaliados. Destacam-se com essa variação o nitrogênio amoniacal, nitrato e o alto valor de CV para LAS no período chuvoso. E no período seco o nitrogênio total e mais uma vez o teor de matéria orgânica.

Tabela 4 – Descrição qualitativa no ponto efluente à célula 2 do UASB (P2)

PARÂMETRO	Período Chuvoso			Período Seco		
	Média	DP	CV	Média	DP	CV
Matéria Orgânica (mg DQO/L)	148	28	19	145	50	34
pH	7,3	0,1	1	7,2	0,1	1
Condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	751	46	6	960	16	2
Sólidos Dissolvidos (mg SD/L)	376	20	5	471	8	2
Nitrogênio Total (mg N-NTK/L)	29	4	14	30	8	27
Nitrogênio Amoniacal (mg N-NH <sub>3</sub> /L)	18	4	22	27	2	7
Nitrato (mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L)	0,7	0,1	22	1,1	0,2	15
Dureza (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	114	3	3	135	7	5
Fósforo Total (mg PO <sub>4</sub> /L)	3,4	0,3	8	5,3	0,5	9
Ortofosfato (mg PO <sub>4</sub> /L)	2,2	0,3	13	3,7	0,4	11
Sulfato (mg SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> /L)	34	5	16	24	3	14
LAS (mg LAS/L)	2,0	0,5	55	3,1	0,3	9

Fonte: O autor (2022).

Na Tabela 5 estão apresentados a média, o DP e o CV das coletas realizadas no ponto efluente final do UASB (P3). O período seco nesse ponto apresentou alta variabilidade apenas para o teor de matéria orgânica, em comum com os pontos P1 e P2. Para o período chuvoso o destaque para valores altos de CV está nos dados de sulfato e LAS, esse último parâmetro também em comum com os outros pontos de coleta.

Tabela 5 – Descrição qualitativa no ponto efluente final do UASB (P3)

PARÂMETRO	Período Chuvoso			Período Seco		
	Média	DP	CV	Média	DP	CV
Matéria Orgânica (mg DQO/L)	177	43	24	126	52	41
pH	7	0,1	1	7	0,1	1
Condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	754	76	10	963	29	3
Sólidos Dissolvidos (mg SD/L)	374	40	11	743	15	3
Nitrogênio Total (mg N-NTK/L)	31	9	28	39	2	6
Nitrogênio Amoniacal (mg N-NH <sub>3</sub> /L)	21	5	23	30	1	3
Nitrato (mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L)	0,7	0,2	25	1,5	0,1	9
Dureza (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	115	5	5	139	7	5
Fósforo Total (mg PO <sub>4</sub> /L)	3,8	0,5	12	5,0	0,2	4
Ortofosfato (mg PO <sub>4</sub> /L)	2,3	0,3	12	3,8	0,2	6
Sulfato (mg SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> /L)	37	12	32	28	4	16
LAS (mg LAS/L)	2,0	1,0	45	3,4	0,3	10

Fonte: O autor (2022).

Na Tabela 6 estão apresentados a média, o DP e o CV das coletas realizadas no ponto efluente à lagoa de polimento (P4). Apresentaram maior variabilidade em sua maioria parâmetros com dados relacionados ao período chuvoso, com destaque ao LAS. A similaridade entre as concentrações de matéria orgânica no ponto P4, em ambos os períodos, destaca que os eventos de chuva não influenciam na estabilização da matéria orgânica pela lagoa de polimento.

Tabela 6 – Descrição qualitativa no ponto efluente à lagoa de polimento (P4)

PARÂMETRO	Período Chuvoso			Período Seco		
	Média	DP	CV	Média	DP	CV
Matéria Orgânica (mg DQO/L)	132	33	25	132	27	21
pH	7,2	0,1	1	7,3	0,2	3
Condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	732	36	5	933	8	1
Sólidos Dissolvidos (mg SD/L)	361	11	3	458	4	1
Nitrogênio Total (mg N-NTK/L)	26	7	26	34	3	10
Nitrogênio Amoniacal (mg N-NH <sub>3</sub> /L)	18	4	22	23	1	6
Nitrato (mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /L)	0,5	0,1	25	0,6	0,1	15
Dureza (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	115	7	6	133	7	5
Fósforo Total (mg PO <sub>4</sub> /L)	3,2	0,2	7	5,1	0,4	7
Ortofosfato (mg PO <sub>4</sub> /L)	2,2	0,3	12	2,8	0,5	17
Sulfato (mg SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> /L)	37	9	23	37	5	14
LAS (mg LAS/L)	1,4	0,8	55	1,9	0,3	14

Fonte: O autor (2022).

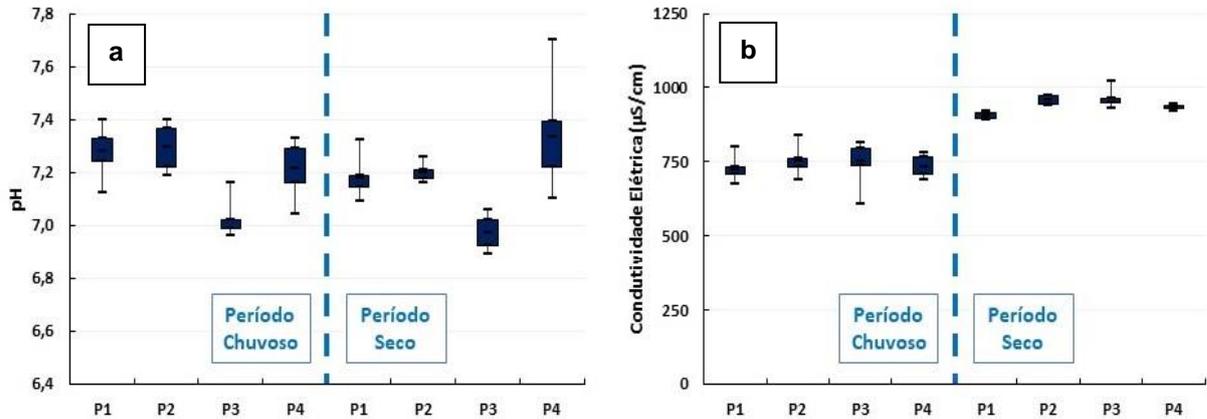
A maior variabilidade observada nas concentrações de LAS em todos os pontos estudados, no período chuvoso, provavelmente está ligada a descontinuidade dos eventos de chuva durante a semana avaliada. Essa descontinuidade pode, por exemplo, tornar descontínua e variada a frequência de lavagem de roupas que é uma grande fonte de geração de efluentes com sabões e detergentes.

### 3.3.2 Avaliação comparativa entre os pontos de coleta

A Figura 11 apresenta os resultados de pH e condutividade elétrica dos pontos de coleta, em ambos os períodos avaliados. Para o pH não há diferença significativa nos valores absolutos referentes aos períodos avaliados, permanecendo os valores na faixa da neutralidade. Para a condutividade elétrica observou-se o aumento no período seco,

provavelmente referente ao menor volume de água que resulta em uma maior concentração dos compostos presentes nos esgotos.

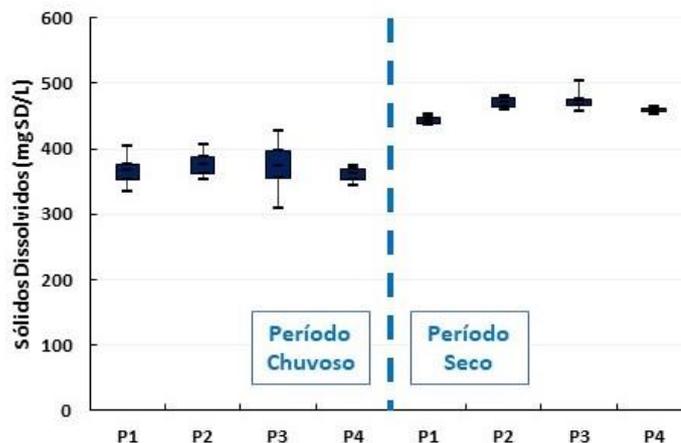
Figura 11 – Boxplot dos resultados para (a) pH e (b) condutividade elétrica



Fonte: O Autor (2022).

A Figura 12 apresenta os resultados de sólidos dissolvidos dos pontos de coleta, em ambos os períodos avaliados. A presença de sólidos dissolvidos não apresentou diferença entre os pontos de coleta, sendo observado apenas o aumento na sua concentração no período seco.

Figura 12 – Boxplot dos resultados para sólidos dissolvidos



Fonte: O autor (2022).

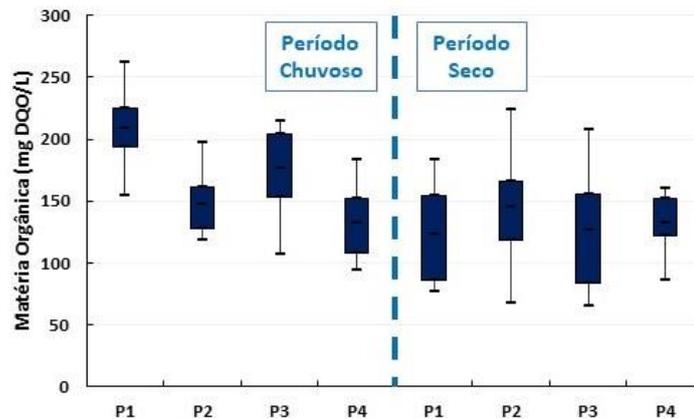
O aumento dos valores de condutividade elétrica e sólidos dissolvidos no período seco indicam o provável arraste de materiais sólidos para o sistema de esgotamento sanitário e conseqüentemente para a estação. O impacto das águas da chuva nos solos, o seu escoamento

superficial e o aumento de vazão nas tubulações do sistema de esgotamento devido a infiltração das águas pluviais aumentam consideravelmente a quantidade de sólidos que chegam às estações de tratamento de esgoto (PÉREZ *et al.*, 2021). Segundo Albornoz *et al.* (2020), esse material vai desde sólidos mais grosseiros, que geralmente são removidos na etapa preliminar da ETE, até sólidos mais finos ou dissolvidos, que podem significar o aumento da condutividade elétrica, da concentração de sólidos dissolvidos e também de matéria orgânica. Entretanto, no presente estudo foi observado a elevação da concentração de sólidos dissolvidos e da condutividade elétrica no período seco devido a menor diluição do esgoto. Já para a matéria orgânica o período chuvoso apresentou maior concentração, provavelmente devido ao maior arraste de sólidos pela chuva para a ETE.

Na Figura 14 estão apresentados os resultados de teor de matéria orgânica dos pontos de coleta, em ambos os períodos avaliados. Para o caso da avaliação do teor de matéria orgânica pela demanda química de oxigênio (DQO), levando em consideração que a análise foi realizada na amostra bruta, não é possível determinar a remoção expressiva de matéria orgânica principalmente no período seco. Optou-se por não avaliar este parâmetro na amostra filtrada pois os valores encontrados eram baixos e ficavam abaixo do limite de detecção do método. Assim, pode-se considerar que o efluente tratado na ETE Mangueira é considerado diluído quando comparado a outros efluentes domésticos no quesito matéria orgânica como já citado anteriormente.

Os resultados do efluente analisado mostrados na Figura 13 evidenciam a uma baixa remoção da matéria orgânica pelo sistema em estudo. Porém o que ocorre, devido ao fato de ter sido avaliado as amostras brutas, é a considerável presença de sólidos nos pontos P2 e P3 e algas no ponto P4, sendo esses fatores relevantes na avaliação da matéria orgânica, dessa forma este elevado valor no parâmetro avaliado está relacionado à matéria orgânica particulada, a qual influi diretamente na eficiência do processo.

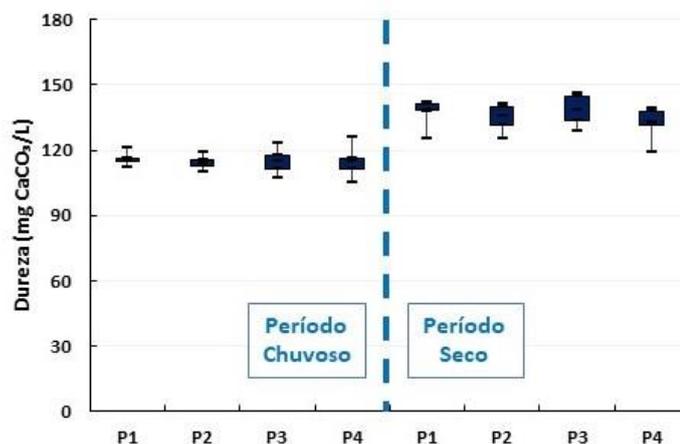
Figura 13 – Boxplot dos resultados para matéria orgânica



Fonte: O autor (2022).

Na Figura 14 estão apresentados os resultados de dureza dos pontos de coleta, em ambos os períodos avaliados. Da mesma forma que o parâmetro anterior, o fator dureza das amostras não apresenta diferença entre os pontos. Observando o aumento da concentração nas amostras avaliadas no período seco, também provavelmente devido a menor diluição do efluente com a ausência de chuvas.

Figura 14 – Boxplot dos resultados para dureza



Fonte: O autor (2022).

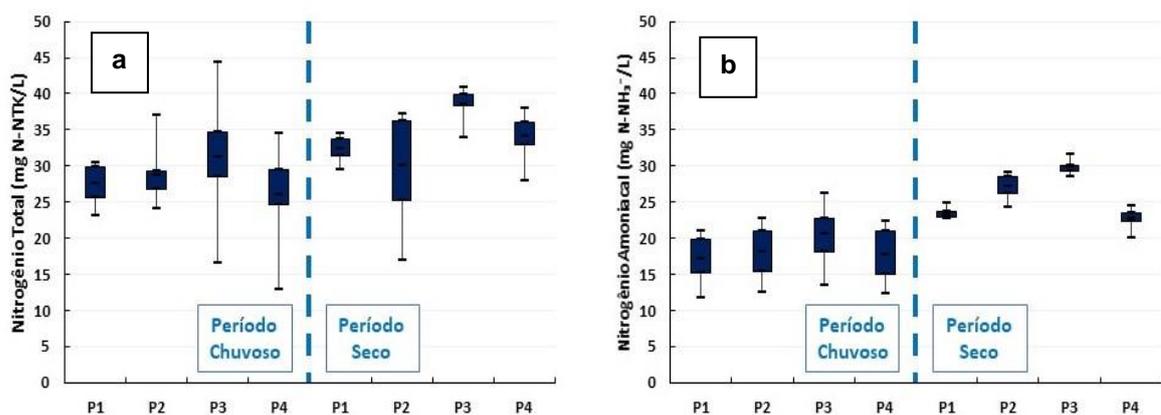
A dureza é um parâmetro importante na discussão da remoção de LAS em um sistema de tratamento de esgotos. Pois a precipitação do surfactante com íons metálicos como o de cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) e magnésio ( $\text{Mg}^{+2}$ ) já foi apontado por Verge *et al.* (2001) como processo importante para a biodisponibilidade do LAS para degradação. Segundo os autores, concentrações próximas a 200 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$  podem resultar em diminuição variando entre

56% e 93% da concentração de LAS em um meio líquido. Na forma precipitada, o surfactante não estaria disponível para os microrganismos.

Na Figura 15 estão apresentados os resultados de nitrogênio total e amoniacal dos pontos de coleta, em ambos os períodos avaliados. Para nitrogênio total, em nenhum dos períodos foi observada diferença expressiva entre os pontos avaliados. Mas para o nitrogênio amoniacal observou-se o aumento do ponto P1 para P2 e P3, seguindo de uma diminuição da concentração desse parâmetro no ponto P4. Apesar dessa diferença não ser muito expressiva, os resultados nesse período ocorreram como se esperava para cada etapa de tratamento da ETE.

Do ponto P1 para P2 e P3, com etapa anaeróbia de tratamento representado pelo reator UASB, a redução do nitrogênio à forma de amônia foi observada, verificando assim a degradação da matéria orgânica nitrogenada. Em seguida no ponto P4, localizado após uma lagoa de polimento, com a diminuição do teor de nitrogênio amoniacal e também de nitrogênio total, provavelmente houve conversão do nitrogênio na forma de nitrato para nitrogênio gasoso. Esse tipo de tratamento aplicado entre os pontos P3 e P4 são utilizados para remoção de nutrientes como o nitrogênio, dessa forma, a conversão à nitrogênio gasoso corrobora com o tipo de tratamento aplicado.

Figura 15 – Boxplot dos resultados para (a) nitrogênio total e (b) amoniacal



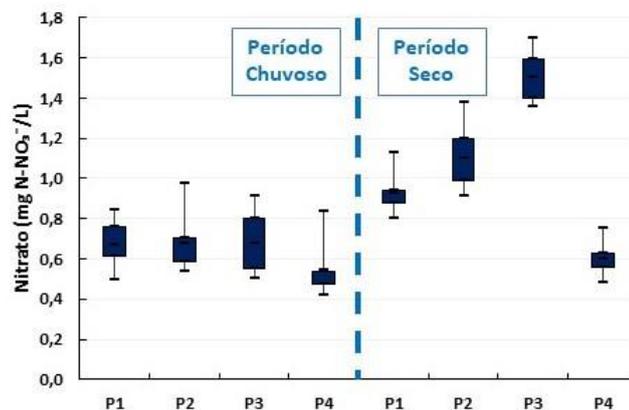
Fonte: O autor (2022).

A Figura 16 apresenta os resultados de nitrato dos pontos de coleta, em ambos os períodos avaliados. No caso do parâmetro nitrato, da mesma forma que para nitrogênio total e amoniacal, no período chuvoso não foram observadas diferenças nas concentrações nos diferentes pontos. Para o período seco observou-se diferença entre os valores absolutos.

Porém o comportamento observado entre os pontos P1 e os pontos após o UASB (P2 e P3) não representaram a conversão do nitrogênio que se espera nos tratamentos anaeróbios.

Nesse tipo de tratamento, espera-se que o nitrogênio seja reduzido à forma de amônia, como foi mostrado anteriormente. Entretanto, também foi observado o aumento da concentração de nitrato, conversão essa mais comum nos tratamentos aeróbios com a oxidação do nitrogênio à essa forma. Isso pode ter ocorrido pela agitação imposta ao efluente na saída de cada célula do reator e no final do UASB, resultando na inserção de oxigênio. Somado ao fato de que no período seco o bombeamento do esgoto ao longo da estação é parado diversas vezes por causa do menor volume de efluente que chega à ETE. No ponto P4, como já discutido anteriormente, a diminuição da concentração de nitrato provavelmente se deu pela sua conversão a nitrogênio gasoso, representando assim a remoção de nitrogênio do efluente.

Figura 16 – Boxplot dos resultados para nitrato



Fonte: O autor (2022).

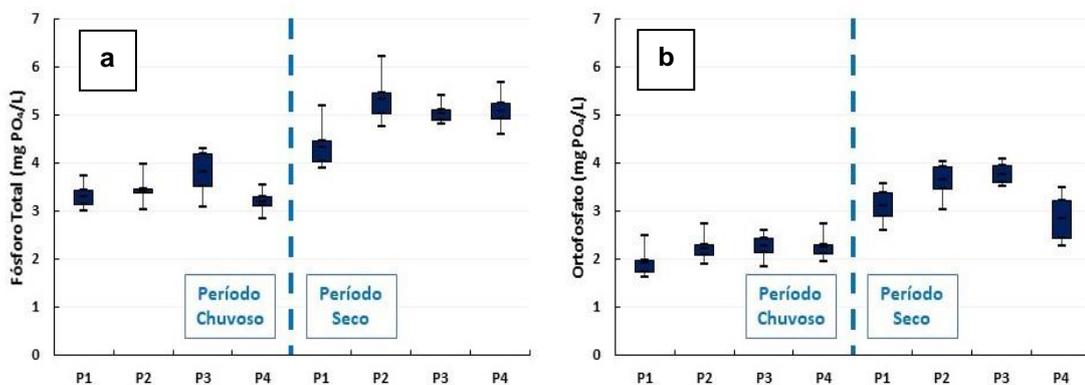
Os três principais mecanismos de remoção de nitrogênio no tratamento de um efluente através de lagoas são a volatilização da amônia, a assimilação de amônia e nitrato pelas algas ou os processos de nitrificação e desnitrificação (ASSUNÇÃO; VON SPERLING, 2013). A lagoa da ETE Mangueira é considerada de polimento. Esse tipo de tecnologia tem grande potencial de aplicação como pós tratamento de reatores UASB para remoção de nutrientes e da matéria orgânica remanescente. A volatilização da amônia tende a ocorrer em ambientes alcalinos, pois a forma predominante do nitrogênio amoniacal nessa condição é o amônio (NH<sub>3</sub>), que é volátil. A presença de algas na lagoa da ETE indica também o consumo de nitrato e amônia pela massa algal. Além disso, é possível também que na lagoa esteja bem estabelecida um ambiente ANAMMOX onde ocorra a desnitrificação, convertendo o nitrato a

nitrogênio gasoso ( $N_2$ ). Segundo Picot *et al.* (2009), todos esses processos podem ocorrer na lagoa e garantir boas eficiências de remoção de nitrogênio do esgoto.

Avaliando lagoas como pós tratamento para um reator UASB, Cavalcanti (2003) mostrou que no seu sistema a remoção de nitrogênio se deu pela volatilização do  $NH_3$ . Segundo a autora, a elevação do pH do meio se deu sem a adição de compostos alcalinos. O pH mais elevado foi obtido de forma natural pois a taxa de consumo de  $CO_2$  pela fotossíntese foi maior que a taxa de produção de  $CO_2$  pela digestão da matéria orgânica. Na lagoa de polimento aplicada por Sato *et al.* (2006) como pós tratamento para o UASB, os autores justificaram a remoção de amônia no consumo pela biomassa algal. Ainda segundo os autores, quando há a morte da alga, a amônia tende a se acumular no fundo da lagoa pela sedimentação.

A Figura 17 apresenta os resultados de fósforo total e ortofosfato dos pontos de coleta, em ambos os períodos avaliados. No período chuvoso não houve variação entre os pontos. Já no período seco foi possível observar o aumento das suas concentrações após o reator UASB, seguido de decaimento após a lagoa no caso do ortofosfato.

Figura 17 – Boxplot dos resultados para (a) fósforo total e (b) ortofosfato



Fonte: O autor (2022).

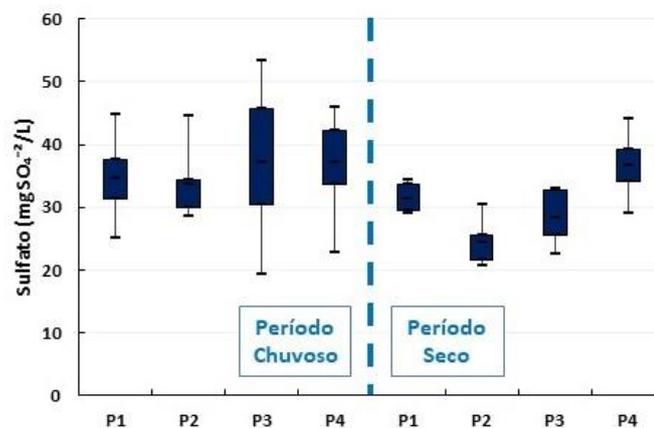
Da mesma forma que para o nitrogênio, o fósforo também pode ser removido por assimilação pela biomassa algal ou bacteriana. E o pH é um fator muito importante também para a remoção desse nutriente por precipitação (VON SPERLING; CHERNICHARO, 2005). Ainda segundo os autores, o tempo de detenção hidráulica da lagoa tem papel determinante para a remoção de fósforo, além de valores de pH acima de 8 com altas concentrações de oxigênio dissolvido para que seja possível o processo de precipitação química do nutriente. Avaliando diferentes profundidades de lagoas de polimento para tratar o efluente de reator

UASB, Sousa *et al.* (2017) observou remoção de 53% de fósforo total e 44% de ortofosfato na lagoa com 20 cm de profundidade com um pH médio de 8,6.

No comportamento do ortofosfato ao longo da ETE, pode-se observar o aumento da sua concentração após o reator UASB. Isso ocorreu pois os microrganismos acumuladores de fósforo (PAO), quando em ambientes anaeróbios, consomem a matéria orgânica utilizando a energia do fósforo (polifosfato) acumulado nas suas células produzindo poli- $\beta$ -hidroxialcanoato (PHA). E assim o fósforo é liberado para o meio líquido na forma de ortofosfato. Já no ambiente mais aeróbio, como a lagoa de polimento, os PAO perdem na competição por matéria orgânica com os microrganismos aeróbios. Assim eles consomem o PHA para obter carbono e energia. Em consequência, esses microrganismos consomem o ortofosfato do meio líquido para acumulá-lo no interior da célula na forma de polifosfato (METCLAF; EDDY, 2016). Utilizando esses processos, a remoção do fósforo no tratamento do esgoto estaria na remoção da biomassa quando acumulando o fósforo nas suas células.

Na Figura 18 estão apresentados os resultados de sulfato dos pontos de coleta, em ambos os períodos avaliados. O período chuvoso não apresentou diferença significativa nos valores absolutos entre os pontos avaliados. No período seco a diminuição da concentração de sulfato do ponto P1 para os pontos P2 e P3 correspondem à redução do sulfato no tratamento anaeróbio. O aumento observado no ponto P4 está relacionado à presença de oxigênio na lagoa de polimento, por causa da inserção da atmosfera e também pela produção das algas, que resulta na oxidação do enxofre à forma de sulfato.

Figura 18 - Boxplot dos resultados para sulfato



Fonte: O autor (2022).

No período seco foi possível observar a diminuição da concentração de sulfato no efluente do reator UASB. Isso ocorreu provavelmente à sua redução à forma de sulfeto. A

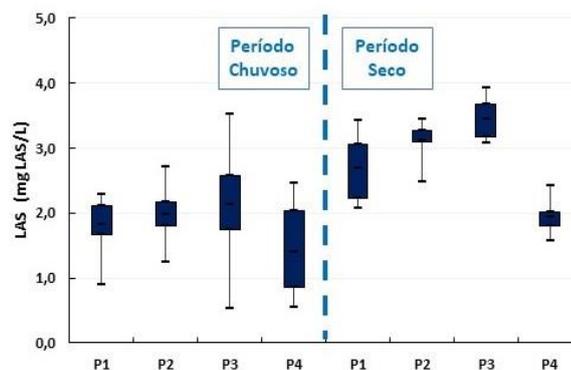
produção de sulfeto gera consequentemente a formação de sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) que está associado à geração de odores no efluente e também à corrosão de metal e concreto. O posterior aumento da concentração de sulfato observada ocorreu devido a oxidação do sulfeto, resultando em um efluente final da ETE com concentração desse componente similar ao esgoto afluente. O que indica uma não remoção do enxofre.

A aplicação de microaeração vêm sendo aplicada para a remoção do  $H_2S$  formado nos reatores UASB com a dessulfuração dos biogases (KRAYZELOVA *et al.*, 2014; POKORNA-KRAYZELOVA *et al.*, 2017; CASTRO; AZEVEDO; SOUZA, 2021). A microaeração visa a oxidação do sulfeto ao nível 0 de oxidação do enxofre, ou seja, o enxofre elementar que precipita e sedimenta. O excesso de oxigenação deve ser evitado para não desestabilizar os microrganismos anaeróbios do reator, além de evitar oxidar o sulfeto à forma de sulfato, o que não representará a sua remoção no tratamento do efluente. Castro, Azevedo e Souza (2021) observaram uma remoção de 98% do  $H_2S$  microaerando um reator UASB.

### 3.3.3 Balanço de massa de LAS

A Figura 19 apresenta os resultados para concentração de LAS nas amostras líquidas, em ambos os períodos climáticos avaliados. Observou-se que nos dois períodos avaliados a concentração de LAS após o UASB foi semelhante ou até superior àquela observada no afluente do reator. Isso pode significar que o processo de dessorção estava ocorrendo e elevando a concentração do surfactante no esgoto. Outro fator importante ligado à recalcitrância do LAS, o TDH aplicado ao reator talvez não seja suficiente para promover a degradação do composto.

Figura 19 – Boxplot dos resultados para LAS



Fonte: O autor (2022).

Para o cálculo de eficiência de remoção de LAS ao longo da ETE, utilizou-se os dados de vazão fornecidos pela BRK Ambiental, administradora da estação. Na Tabela 7 estão apresentadas as médias diárias de massa de LAS afluente e efluente a cada etapa da estação, além da sua avaliação como um todo. Nos efluentes da célula C2 do UASB e no reator como um todo foi observado, em alguns dias avaliados, valores de massa de LAS superiores aquelas observadas no seu afluente, indicando o processo de dessorção do surfactante adsorvido à biomassa.

Tabela 7 – Balanço de massa de LAS ao longo da ETE, em quilos

ETAPA	Período Chuvoso			Período Seco		
	Afluente	Efluente	Dessorvido	Afluente	Efluente	Dessorvido
<b>C2 (UASB)</b>	1,2 ± 0,3	1,3 ± 0,3	0,3 ± 0,1	6 ± 2	7 ± 2	1 ± 1
<b>UASB</b>	10 ± 2	12 ± 5	5 ± 2	47 ± 17	61 ± 21	18 ± 18
<b>LAGOA</b>	12 ± 5	1 ± 1	-	61 ± 21	4 ± 1	-
<b>ETE</b>	10 ± 2	1 ± 1	-	47 ± 17	4 ± 1	-

Fonte: O autor (2022)

Na tabela 8 estão apresentadas as eficiências de remoção de LAS para cada etapa do tratamento, além da remoção global da ETE. A eficiências negativas observadas na célula 2 e no UASB como um todo, em ambos os períodos avaliados, indica que não houve remoção por adsorção nem por biodegradação. Como citado anteriormente, observou-se um aumento da concentração de LAS no efluente do reator em comparação ao seu afluente. Esse fato evidencia que estava ocorrendo o processo de dessorção do LAS adsorvido à biomassa, provavelmente pela aplicação de uma vazão excessiva ao sistema ou pelo excesso de LAS no lodo do reator. O provável excesso de LAS na biomassa do reator resulta na total ocupação dos possíveis sítios de adsorção do LAS e essa excessividade pode causar a deterioração da estrutura do lodo com o seu carreamento junto ao efluente, como mostrado por Liwarska-Bizukojc e Bizukojc (2006). A ocupação dos surfactantes na superfície dos flocos do lodo diminui a sua capacidade de sedimentação, característica essa essencial para o bom funcionamento do reator UASB. Apesar da não remoção do LAS no reator UASB, a lagoa de polimento obteve elevados valores para a eficiência de remoção do surfactante, o que garantiu que a eficiência global da ETE fosse elevada.

Tabela 8 – Médias diárias de eficiência de remoção de LAS na ETE-Mangueira

	<b>Período Chuvoso</b>	<b>Período Seco</b>
<b>Célula 2 do UASB</b>	-13 ± 24 %	-19 ± 21 %
<b>UASB</b>	-27 ± 59 %	-33 ± 40 %
<b>Lagoa de Polimento</b>	89 ± 7 %	93 ± 4 %
<b>ETE-Mangueira</b>	88 ± 11 %	91 ± 8 %

Fonte: O autor (2022).

Avaliando também a ETE-Mangueira, porém em outro período, Silva *et al.* (2017), observou eficiências de remoção de LAS no UASB que variaram em média entre 30% a 40%, enquanto que na lagoa de polimento a variação média foi entre 35% e 60%. Esses resultados garantiram uma remoção de global na ETE variando entre 55% e 75%. Em comparação ao presente estudo, apesar de não ter sido observado remoção de LAS no UASB, a lagoa de polimento atingiu melhores resultados na remoção do surfactante. Garantindo dessa forma uma remoção de LAS na ETE superior ao estudo previamente citado em aproximadamente 25% considerando os dois períodos de avaliação do estudo.

Apesar da recalcitrância do LAS em sistemas anaeróbios, alguns estudos mostraram que o TDH pode ser determinante para a sua degradação. Okada *et al.* (2013) observou que variando o TDH entre 6, 35 e 80 horas a eficiência de degradação de LAS variou entre 18 e 55%. Os autores destacaram também a relevância da relação entre matéria orgânica e biomassa na degradação do surfactante. Lobner *et al.* (2004) operou um reator UASB com TDH de 2 dias em condições mesofílicas (37°C) e termofílicas (55°C) e observou a melhor taxa de degradação de LAS na condição termofílica atingindo 80% de remoção do surfactante.

Operando um sistema de tratamento similar à ETE-Mangueira, Chernicharo *et al.* (2010) aplicou um sistema consistindo em reator UASB seguindo de três lagoas de polimento em série par a avaliar a remoção de LAS. No UASB os autores observaram remoção do LAS de aproximadamente 20%. Já nas lagoas observaram uma crescente eficiência de remoção de aproximadamente 30%, 40% e 45% para a primeira, segunda e terceira lagoa de polimento, respectivamente.

O tempo de detenção hidráulico se mostra como parâmetro de extrema importância na remoção de compostos recalcitrantes como o LAS. O maior TDH pode garantir maior adaptação da biomassa ao composto pelo seu maior contato e interação. Para a ineficiência de remoção do surfactante no reator UASB da ETE-Mangueira, esse fator pode ter sido determinante visto que o reator opera com TDH variando entre 8 e 12 horas.

### 3.4 CONCLUSÕES

- A avaliação da qualidade do efluente tratado na ETE Mangueira, especialmente sobre o parâmetro de quantificação de matéria orgânica, o classifica como esgoto diluído. Visto que os valores de matéria orgânica observados em ambos os períodos climáticos não superaram o valor de 210 mg/L. Valor esse considerado baixo para esgoto bruto quando comparado a outros efluentes também de origem doméstica.
- Na avaliação estatística utilizando o parâmetro de coeficiente de variação, concluiu-se que para a grande maioria dos parâmetros avaliados não foi observado diferenças significativas ao longo dos dias da semana.
- Para a maioria dos parâmetros, os diferentes períodos climáticos avaliados no estudo influenciaram na diluição do esgoto. No período considerado chuvoso, a infiltração das águas pluviais diminuiu a concentração dos parâmetros. Com relação à matéria orgânica não foi observado a remoção expressiva visto que as amostras foram avaliadas na forma bruta devido a sua grande diluição. Dessa forma, essa não remoção de matéria orgânica provavelmente está ligada as suas transformações ao longo do tratamento, como a biomassa de algas gerada na lagoa que representam um aumento na avaliação da matéria orgânica particulada (DQO bruta). A remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) também não foi expressiva em nenhum dos períodos avaliados, visto que as concentrações desses compostos são numericamente semelhantes no afluente e efluente à ETE. Com relação a remoção de matéria orgânica e nutrientes, a ETE-Mangueira se mostrou ineficiente no tratamento do esgoto.
- O reator UASB não removeu o LAS, havendo um aumento da sua concentração no seu efluente. Isso ocorreu provavelmente devido ao excesso do surfactante adsorvido à biomassa, o que resulta na dessorção. Enquanto isso, a lagoa de polimento obteve elevadas eficiências de remoção do surfactante, garantindo que a avaliação da eficiência da ETE como um todo, na remoção de LAS, também fosse elevada.

### 3.5 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- A avaliação por um maior período de tempo pode gerar uma maior quantidade de dados que irá conseqüentemente reduzir a influência de diversos fatores externos e internos que possam ocorrer durante o monitoramento. Esse monitoramento mais longo pode também contribuir para uma melhor avaliação da influência da chuva na caracterização do esgoto ao longo da ETE e também na remoção de matéria orgânica, nutrientes e LAS.
- Desenvolver a partir de um monitoramento prolongado uma pesquisa visando a modelagem dos dados avaliando todas as variações, dos diversos parâmetros quantificados, ao longo da ETE.

## **4 INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE NITRATO, SULFATO E FERRO COMO ACEPTORES DE ELÉTRONS NA BIODEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DO ALQUILBENZENO LINEAR SULFONADO (LAS)**

Um dos estudos realizados no presente trabalho focou na avaliação da biodegradação anaeróbia do LAS em condições controladas de laboratório avaliando como alguns fatores estudados poderia influenciar na degradação do surfactante.

### **4.1 OBJETIVOS**

#### **4.1.1 Objetivo geral**

Avaliar a influência do nitrato, sulfato e ferro como aceptores de elétrons na degradação anaeróbia do alquilbenzeno linear sulfonado (LAS) e na comunidade microbiana envolvida na degradação do surfactante aniônico.

#### **4.1.2 Objetivos específicos**

- Avaliar o comportamento da concentração de LAS no meio líquido dos reatores ao longo do tempo de operação dos reatores em batelada.
- Avaliar a influência dos diferentes aceptores de elétrons na eficiência de biodegradação anaeróbia do LAS com e sem a adição de etanol como co-susbttrato.
- Avaliar a influência da adição de nitrato, sulfato ou ferro no processo de adsorção do LAS à biomassa.
- Analisar a diversidade microbiana dos reatores em batelada comparando o inóculo com os reatores anaeróbios submetidos a diferentes aceptores de elétrons.
- Verificar os principais grupos de microrganismos envolvidos na biodegradação anaeróbia do LAS em reatores anaeróbios submetidos a diferentes aceptores de elétrons.

## 4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para avaliar a influência do nitrato, sulfato e ferro como aceptores de elétrons na degradação anaeróbia do LAS, foram empregados reatores em batelada. Ao final do experimento, dentre os diversos parâmetros avaliados, a remoção de LAS por biodegradação indicou se os aceptores de elétrons avaliados poderiam influenciar a degradação do surfactante.

### 4.2.1 Inóculo

O inóculo utilizado como biomassa nos reatores foi proveniente do lodo de reator UASB em escala real da ETE Mangueira, que recebe esgotos domésticos, localizada no bairro de mesmo nome na cidade de Recife-PE. O reator UASB possuía 8 células de dimensões similares e em paralelo, no qual 5 litros de lodo foram coletados da altura intermediária (1,5 m do fundo) de uma dessas células. O lodo foi então transportado para o LSA onde permaneceu sob refrigeração por aproximadamente 3 meses até o início do experimento.

Em laboratório, o lodo foi lavado para retirada de impurezas e materiais finos como areia e argila. Para a lavagem, ele foi colocado em béqueres no qual adicionou-se água pelas paredes do béquer e deixou que o sistema sedimente por 20 minutos. Após esse tempo, o sobrenadante era retirado para realizar nova lavagem. Esse procedimento foi realizado 5 vezes ou até que o sobrenadante se apresentasse clarificado (SOUZA, 2009). Com o auxílio de uma peneira retirou-se o excesso de água do lodo e também, com o auxílio de uma espátula, retirou-se materiais como sementes, pedras, materiais plásticos, galhos pequenos de plantas ou qualquer outro material presente que pudesse interferir nas análises ou no experimento.

A determinação de sólidos voláteis foi realizada de acordo com APHA (2012), observando-se uma biomassa com concentração de 122 mg SSV/g lodo.

### 4.2.2 Solução de macro e micronutrientes

Aos reatores foi fornecida solução de nutrientes considerados essenciais para o desenvolvimento dos microrganismos. Essa solução foi preparada a partir da mistura de uma solução de macronutrientes e uma solução de micronutrientes. A solução de micronutrientes, descrita por Florêncio *et al.* (1993) (Tabela 8), foi preparada anteriormente e preservada sob

refrigeração até a inoculação dos reatores. Para cada 1 L da solução de macronutrientes, adicionou-se 1 mL da solução de micronutrientes.

Tabela 8 - Composição da solução de micronutrientes

<b>Composto</b>	<b>Fórmula</b>	<b>Concentração (g/L)</b>
Cloreto de ferro II tetrahidratado	$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2
Cloreto de zinco	$\text{ZnCl}_2$	0,05
Cloreto de manganês tetrahidratado	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,5
Cloreto de níquel hexahidratado	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,142
Selenito de sódio pentahidratado	$\text{NaSeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,164
Ácido bórico	$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,05
Cloreto de cobre dihidratado	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,038
Cloreto de cobalto hexahidratado	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2
Cloreto de alumínio hexahidratado	$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,09
Molibdato de amônio heptahidratado	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,05
EDTA	-	1
Resazurina	-	0,2
Ácido clorídrico	$\text{HCl}$	1 (mL/L)

Fonte: Florêncio *et al.* (1993).

A composição da solução de macronutrientes, descrita por Field, Lettinga e Geurts (1987), está apresentada na Tabela 9 e foi preparada no dia de inoculação dos reatores devido à instabilidade de alguns dos seus componentes.

Tabela 9 - Composição da solução de macronutrientes

<b>Composto</b>	<b>Fórmula</b>	<b>Concentração (g/L)</b>
Cloreto de amônio	$\text{NH}_4\text{Cl}$	0,28
Fosfato dipotássico	$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,252
Sulfato de magnésio heptahidratado	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,1
Cloreto de cálcio	$\text{CaCl}_2$	0,007
Bicarbonato de sódio	$\text{NaHCO}_3$	0,4
Extrato de levedura	-	0,1

Fonte: Field, Lettinga e Geurts (1987).

#### 4.2.3 Alquilbenzeno linear sulfonado

O LAS utilizado nos experimentos foi fornecido DETEN QUÍMICA S.A., que apresentou pureza de 99,99%. Na Tabela 10 apresenta-se a distribuição dos homólogos do

LAS empregado neste estudo. Foi preparada uma solução estoque de 1000 mg LAS/L para ser aplicada na inoculação dos reatores.

Tabela 10 – Distribuição do LAS utilizado nos experimentos

<b>Homólogo</b>	<b>Percentual da Composição</b>
C <sub>10</sub>	7,94
C <sub>11</sub>	40,64
C <sub>12</sub>	34,43
C <sub>13</sub>	16,99

Fonte: O autor (2022).

#### 4.2.4 Tratamentos aplicados aos reatores

Os diferentes tratamentos aplicados aos reatores serviram para avaliar separadamente a influência do nitrato, sulfato e ferro na degradação anaeróbia do LAS com e sem adição de etanol como co-substrato. A utilização do etanol como co-substrato, segundo Motteran *et al.* (2018) e Silva *et al.* (2017), pode influenciar de forma positiva a degradação do LAS sob condições anaeróbias, apresentando maiores valores de remoção de LAS por degradação quando comparado ao tratamento sem etanol. Como fonte de nitrato, sulfato e ferro no experimento foram utilizados nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>), sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e cloreto férrico hexahidratado (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O), respectivamente.

Além dos tratamentos com adição dos compostos como acceptor de elétrons, dois tratamentos controles sem aceptores foram monitorados. A Tabela 11 apresenta os tratamentos aplicados no experimento. A concentração de LAS adicionada em cada reator foi de 20 mg/L, enquanto que a concentração de etanol em termos de DQO foi de aproximadamente 75 mg/L (36 mg EtOH/L).

Tabela 11 - Resumo dos tratamentos aplicados aos reatores

<b>Aceptor de elétrons</b>	<b>Identificação</b>	<b>Tratamento (composição do meio líquido)</b>	<b>Concentração do acceptor de elétrons (mg/L)</b>
-	C1	LAS + Nutrientes	-
	C2	LAS + Nutrientes + Etanol	-
Nitrato	N	LAS + Nutrientes + Nitrato	30
	NE1		10
	NE2	LAS + Nutrientes + Etanol + Nitrato	30
	NE3		50
Sulfato	S	LAS + Nutrientes + Sulfato	100
	SE1		50
	SE2	LAS + Nutrientes + Etanol + Sulfato	100
	SE3		200
Ferro	F	LAS + Nutrientes + Ferro-III	10
	FE1		5
	FE2	LAS + Nutrientes + Etanol + Ferro-III	10
	FE3		15

Fonte: O autor (2022).

Com exceção dos tratamentos C1 e C2, que foram montados em duplicata, todos os outros reatores foram montados em quadruplicata. Sendo uma das réplicas sacrificada no mesmo dia da inoculação para servir como avaliação das condições iniciais dos reatores.

O experimento foi dividido em duas sessões, cada uma delas durando 49 dias. A primeira sessão correspondeu aos reatores com tratamento controle (C1 e C2), os reatores com tratamento sem o co-substrato (N, S e F) e os reatores com o co-substrato avaliando a concentração intermediária dos aceptores de elétrons (NE2, SE2 e FE2). A segunda sessão correspondeu aos reatores com o co-substrato avaliando a menor concentração (NE1, SE1 e FE1) e a maior concentração (NE3, SE3 e FE3) dos aceptores de elétrons.

#### 4.2.5 Inoculação dos reatores anaeróbios em batelada

A preparação e inoculação dos reatores foram realizados em dois momentos distintos, sendo o primeiro um pré-tratamento do inóculo para sua ativação e o segundo momento a montagem dos reatores anaeróbios em batelada conforme os tratamentos citados anteriormente.

#### 4.2.5.1 Pré-tratamento e aclimatação do inóculo

Por estar sendo mantido sob refrigeração, optou-se por adaptar o lodo à temperatura e às condições nas quais os reatores anaeróbios em batelada iriam ser operados. Para isso o lodo foi retirado da refrigeração e dividido em diferentes frascos de borosilicato de 1 L. Cada frasco recebeu o tratamento similar aos quais o inóculo seria submetido posteriormente com os reatores do experimento. Ou seja, receberam a solução de nutrientes (20% do volume líquido do frasco) e também, separadamente, uma solução contendo nitrato (para os tratamentos N, NE1, NE2 e NE3), sulfato (para os tratamentos S, SE1, SE2 e SE3) ou ferro (para os tratamentos F, FE1, FE2 e FE3). O lodo que não recebeu nenhum desses três componentes foi utilizado para inoculação dos reatores considerados com tratamentos controle (C1 e C2).

Destaca-se que o LAS não foi fornecido nessa fase de aclimatação do inóculo. Como fonte de carbono foi preparada uma solução mãe de ácidos orgânicos voláteis (AOV), conforme descrita por Florêncio *et al.* (1993), cuja composição está apresentada na Tabela 12. A solução de AOV adicionada resultou na concentração de matéria orgânica nos frascos de aproximadamente 1 g DQO/L.

Tabela 12 - Composição da solução de AOV

Ácido	Fórmula	Concentração	
		g/L	g DQO/L
Acético	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	100	106,7
Propiônico	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	100	151,3
Butírico	C <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	100	181,8
<b>TOTAL</b>		<b>300</b>	<b>439,8</b>

Fonte: Florêncio *et al.* (1993).

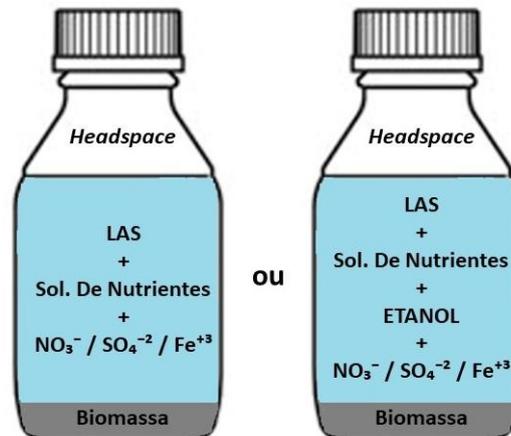
Os frascos para adaptação e aclimatação do lodo foram mantidos a 30 °C por 7 dias até a inoculação dos reatores do experimento. Esse período foi determinado levando em conta o rápido processo de adsorção de LAS até o equilíbrio entre o LAS adsorvido e dissolvido na fase líquida, como descrito por Ou *et al.* (1996).

#### 4.2.5.2 Montagem dos reatores

Para a condução do experimento foram utilizados frascos de borosilicato, sendo 400 mL de volume reacional e *headspace* de aproximadamente 110 mL. Para fechar e vedar os frascos foram utilizados septos de borracha visando ser possível coletar amostras durante a batelada com o uso de seringas.

A concentração de SSV condicionada para todos os reatores foi de 800 mg/L. Dessa forma, levando em consideração o teor de SSV no lodo e o volume líquido do reator, adicionou-se aproximadamente 6,6 g do lodo aclimatado em cada reator. Após colocar o lodo nos frascos, as soluções foram adicionadas com o auxílio de balança semi-analítica considerando a densidade de todas elas com valor aproximado à densidade da água (~1 g/mL). Após a pesagem e adição das soluções, os reatores foram homogeneizados. Antes de serem vedados, utilizou-se gás nitrogênio (N<sub>2</sub>) para substituir a atmosfera de oxigênio presente *headspace* do reator, diminuindo a possibilidade de desenvolvimento de microrganismos aeróbios. A Figura 20 apresenta o esquema do reator mostrando os componentes adicionados na inoculação.

Figura 20 – Componentes adicionados nos reatores durante sua montagem



Fonte: O autor (2022).

Após vedados, os reatores foram mantidos sob agitação a 120 rpm e temperatura controlada a aproximadamente 30 °C.

#### 4.2.6 Análises físico-químicas e cromatográficas

Ao longo da primeira sessão de reatores foram realizadas oito coletas de 2 mL, com o auxílio de seringas, em cada reator, para quantificação de LAS. Além desses pontos, também se quantificou a concentração de LAS no reator sacrifício inicial e em cada reator após o fim da batelada. Nesses últimos dois casos foram avaliados o teor de LAS na fase líquida e o adsorvido à biomassa, enquanto que durante a batelada apenas avaliou-se a concentração na fase líquida. Na primeira batelada ainda se avaliou, ao final do experimento, a composição do biogás presente no *headspace* dos reatores. Da segunda sessão de reatores não se avaliou a concentração de LAS durante o experimento, essa avaliação foi feita no reator sacrifício do início e ao final da operação de cada reator.

Dos reatores sacrifício foram avaliados além da concentração de LAS, a concentração de matéria orgânica por DQO e as concentrações de nitrato, sulfato e ferro nos reatores que receberam esses nutrientes respectivamente. Ao final da batelada também foram analisadas as formas reduzidas desses compostos, nos seus respectivos tratamentos, além de outros parâmetros como mostrado na Tabela 13.

Tabela 13 - Análises realizadas no experimento

<b>Parâmetro</b>	<b>Metodologia</b>	<b>Referência</b>
LAS	HPLC	SILVA <i>et al.</i> (2017)
DQO	Colorimétrica	APHA (2012)
Nitrato	Espectofotométrica	APHA (2012)
Nitrogênio Amoniacal	Titulométrica	APHA (2012)
Sulfato	Turbidimétrica	SILVA (2001)
Sulfeto	Titulométrica	SILVA (2001)
Ferro III	Colorimétrica	SILVA (2001)
Ferro II	Colorimétrica	SILVA (2001)
Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV)	GC	MAINTINGUER <i>et al.</i> (2008)
Concentração de gases no <i>headspace</i>	GC	MADEIRA <i>et al.</i> (2021)

HPLC – High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia Líquida de Alta Performance)  
GC – Gas Chromatography (Cromatografia Gasosa)

Fonte: O autor (2022).

### 3.2.6.1 Biologia Molecular

Foi realizada a avaliação da diversidade microbiana do inóculo, do tratamento controle C2 e dos tratamentos da primeira batelada que receberam etanol como co-substrato, ou seja, os tratamentos com avaliação da concentração intermediária dos aceptores de elétrons (NE2, SE2 e FE2). Esse estudo foi realizado a partir do sequenciamento de alta performance do gene 16S rRNA. A identificação da diversidade microbiana neste estudo foi realizada por meio do sequenciamento massivo do gene 16S do RNA ribossomal (rRNA). Para caracterização da comunidade microbiana foram empregadas técnicas de biologia molecular consistindo em extração de DNA, Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) e sequenciamento genético em *metabarcoding* do gene 16S do RNA ribossomal. Para isso, inicialmente foram extraídos o DNA da biomassa dos reatores supracitados. As amostras foram armazenadas em tubo Falcon de fundo cônico (50 mL) a temperatura de -20°C. Para a extração do DNA foi utilizado o kit Power Soil® (MoBio Laboratories Inc., EUA), conforme instruções do fabricante. Após a extração, foram realizadas leituras das concentrações e da pureza do DNA (relação 260/280 nm) no espectrofotômetro (Nanodrop 2000 Spectrophotometer Thermo Scientific®).

Essa avaliação foi realizada pela *Facility Neopropecta Microbiome Technologies* (Florianópolis-SC). A identificação das bactérias presentes nas amostras foi realizada a partir de um sequenciamento de alto desempenho das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA. Os primers utilizados para a amplificação das regiões V3-V4 foram 314F (CCTACGGGRSGCAGCAG) e 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT) (WANG; QIAN, 2009; CAPORASO et al., 2012). As bibliotecas foram sequenciadas com o auxílio do equipamento MiSeq Sequencing System (Illumina Inc, USA). A avaliação dos dados sequenciados foi feita no banco de dados públicos SILVA (QUAST et al., 2013). Os índices de alfa e beta diversidade foram realizados utilizando o *software* PAST®.

### 4.2.7 Preparação das amostras e quantificação de LAS

Antes de serem injetadas no HPLC, aproximadamente 2 mL das amostras foram filtradas em filtros de seringa com membrana de celulose com 0,45 µm de porosidade para evitar que interferentes ou sólidos finos possam prejudicar a análise ou o cromatógrafo.

A extração de LAS do lodo foi realizado com lavagens sucessivas de metanol. Inicialmente, o lodo foi colocado para secar em estufa a 105 °C por aproximadamente 24

horas. Após esse período, o lodo seco foi macerado e 0,2 g do mesmo foi colocado em tubos cônicos de 50 mL. Ao tubo com o lodo seco foi adicionado 25 mL de metanol. Homogeneizou-se o conteúdo do tubo fechado com o auxílio de agitador automático do tipo Vórtex para serem colocados em banho termoestatizado com ultrassom (Unique, modelo USC-1850A) a aproximadamente 60 °C por 15 minutos.

Após o período citado as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos com posterior retirada do sobrenadante que foi reservado. Esse processo de banho com metanol foi realizado por três vezes juntando o sobrenadante de todas as etapas. Posteriormente, repetiu-se o procedimento, porém com 20 mL de água deionizada e também juntando o sobrenadante com os demais. Ao final, os 170 mL de sobrenadante gerados foram levados a chapa aquecedora até diminuir seu volume a menos que 50 mL. Sendo posteriormente passados para balão de 50 mL e aferidos com água deionizada (DUARTE *et al.*, 2007).

Para a quantificação de LAS, 1 mL desse volume contido no balão de 50 mL foi colocado em tubo de fundo cônico de 50 mL e levado ao concentrador. Utilizou-se o concentrador da marca Genevac SP SCIENTIFIC, modelo EZ- 2.3 Elite. Esse procedimento, de concentração e centrifugação durou 30 minutos com pressão a aproximadamente 1 mbar e a  $\pm 60$  °C. Após o período no concentrador, as amostras foram ressuspensas com 1 mL de uma solução de água e metanol na proporção 65:35 (v:v). Antes de serem injetadas no HPLC, essas amostras também foram filtradas em filtros de seringa com membrana de celulose com 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade. Após a quantificação do LAS, determinou-se a sua concentração em 0,1 g de lodo seco levando em consideração que a extração desse LAS se deu com 85 mL de solvente.

No método analítico por meio do HPLC foi utilizado a coluna analítica da Merck em fase reversa Lichrospher<sup>®</sup>RPC18 de 250 mm x 4,6 mm (diâmetro interno) x 5  $\mu\text{m}$ . As fases móveis foram água com 5 mmol/L de ácido etanoico e 5 mmol/L de trietilamina (solvente A) e acetonitrila (solvente B) com uma vazão de 1 mL/min. Utilizou-se o equipamento com a detecção UV-Vis em 230 nm e fluorescência em 230 nm (excitação) e 290 nm (emissão) com a temperatura do compartimento da coluna a 40 °C. Foi aplicado o gradiente na fase móvel entre os dois solventes utilizados da seguinte forma: iniciou-se com 70% do solvente A e 30% do solvente B até os 20 minutos do procedimento; dos 20 aos 34 minutos aplicou-se 40% do solvente A e 60% do solvente B; dos 34 aos 40 minutos (últimos 6 minutos do procedimento) voltou-se a aplicar 70% do solvente A e 30% do solvente B (SILVA *et al.*, 2017).

#### 4.2.8 Teste de adsorção com reatores abióticos

Para avaliar a adsorção do LAS à biomassa sem a interferência da biodegradação foi realizado o experimento em menor escala com reatores abióticos. Foram utilizados frascos de 100 mL com condições similares nos tratamentos e montagem a aquelas empregadas no experimento com os reatores de 500 mL, totalizando 14 reatores abióticos. Para a identificação dos tratamentos aplicados nessa parte do experimento utilizou-se a sigla AB para indicação da condição abiótica dos reatores.

O processo para inativar os microrganismos tornando a biomassa abiótica se deu pela autoclavagem dos reatores, segundo Menezes *et al.* (2021). No dia da inoculação (primeiro dia), autoclavou-se os reatores após a montagem por 1 hora e 30 minutos, deixando eles descansarem por 24 horas dentro da autoclave para evitar contaminação externa. No segundo e terceiro dia os reatores foram novamente autoclavados por 30 minutos, respeitando o período de descanso de 24 horas entre esses dias. A repetição da autoclavagem seu deu para inativar até os microrganismos que pudessem apresentar uma maior resistência, como é o caso dos que são capazes de criar esporos para resistir as adversidades do ambiente que estão inseridos.

Após esse processo, os reatores foram mantidos em sala termoestabilizada com temperatura em aproximadamente 30°C, sendo realizada agitação manual dos reatores três vezes ao dia. Os reatores foram mantidos por 7 dias e após serem desmontados foi analisado o teor de LAS na fase líquida.

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os reatores foram inoculados e permaneceram em período de reação por 49 dias. Após a desmontagem foram avaliados diversos fatores que poderiam influenciar nos resultados de remoção de LAS e na digestão anaeróbia de forma geral. Esses resultados estão apresentados nos tópicos a seguir.

#### 4.3.1 Reatores anaeróbios em batelada

Os valores teóricos iniciais das concentrações de cada acceptor de elétrons e de matéria orgânica nos tratamentos estão apresentados na Tabela 14, além das concentrações observadas nas condições iniciais dos reatores anaeróbios. Destaca-se que o intervalo entre a inoculação dos reatores e as análises iniciais foi de aproximadamente 2 horas. As concentrações de nitrato e ferro observadas inicialmente nos reatores ficaram próximas daquelas determinadas para aplicação no experimento. No caso do sulfato observou-se uma menor concentração quanto aos valores teóricos, provavelmente devido ao rápido consumo do sulfato pela biomassa. No caso da matéria orgânica, nos reatores sem e com etanol, as concentrações discutidas foram semelhantes.

Tabela 14 – Valores teóricos iniciais nos reatores e valores encontrados no reator sacrifício inicial

<b>Componente</b>	<b>Tratamentos</b>	<b>Valores iniciais teóricos</b>	<b>Concentração inicial</b>
<b>Nitrato mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L</b>	NE1	10	13,1
	N e NE2	30	29,0 ± 0,3
	NE3	50	54,7
<b>Sulfato mg SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>/L</b>	SE1	50	14,7
	S e SE2	100	51 ± 6
	SE3	200	112,5
<b>Ferro mg Fe<sup>+3</sup>/L</b>	FE1	5	6,1
	F e FE2	10	10 ± 1
	FE3	15	16,4
<b>Matéria Orgânica mg DQO/L</b>	Sem etanol	80	88 ± 4
	Com etanol	155	195 ± 9

Fonte: O autor (2022).

### 4.3.2 Avaliação dos reatores ao final do experimento

Ao final do experimento, que durou 49 dias, foi observado que nos tratamentos controle (C1 e C2), nos quais não há adição dos aceptores de elétrons, a biomassa se encontrava praticamente sedimentada com fase líquida clarificada. Enquanto que nos tratamentos com adição de nitrato, sulfato e ferro (independente da concentração avaliada) parte da biomassa estava em suspensão no meio líquido, apenas com parcela menor sedimentada e assim apresentando um líquido com cor mais escura. A Figura 21 apresenta a situação descrita anteriormente, no qual o reator à esquerda (mais clarificado) é um dos reatores com tratamentos controle e os outros dois reatores foram tratamentos que receberam os aceptores de elétrons.

Figura 21 – Condição visual dos reatores ao final do experimento



Fonte: O autor (2022).

Esse comportamento da biomassa pode ter ocorrido devido as maiores parcelas de LAS que se adsorveram ao lodo com a adição do acceptor de elétrons, como discutido nos resultados do experimento abiótico. É uma característica do LAS, como apresentado por Pentead, Seoud e Carvalho (2006), que ao se adsorver a sólidos que estavam sedimentados os ressuspender levando-os para a superfície do meio líquido. Visto que o LAS, como qualquer outro surfactante, diminui o peso específico daquele sólido ao qual está adsorvido e diminui sua capacidade de sedimentação (METCALF; EDDY, 2016).

#### 4.3.2.1 Remoção de matéria orgânica

Na Tabela 15 estão apresentados os resultados de remoção de matéria orgânica (MO). Para o caso dos reatores com co-substrato, observou-se um aumento da remoção de MO quando comparado ao controle C2. O maior aumento observado foi para o tratamento com maior concentração de ferro (FE3), no qual a remoção de MO dobrou em relação a C2. Porém no caso de ausência do co-substrato, a remoção de MO no controle (C1) foi baixa, fato esse ocorrido pois a remoção ficou restrita aos microrganismos que não utilizam os compostos estudados como aceptores de elétrons.

Para os tratamentos com adição de nitrato, sulfato ou ferro, foi observado o aumento no teor de matéria orgânica ao final do experimento, expresso pelos resultados negativos de remoção de MO. Para esses casos, a ausência de uma fonte de carbono além do LAS e a presença do acceptor de elétrons provavelmente prejudicaram boa parte da microbiota. Esse efeito inibitório e/ou tóxico que o meio exerceu nos microrganismos resultou na provável morte de parte da biomassa e, com isso, a lise celular desses microrganismos que, segundo Rice e Beyles (2008), há a liberação do material interno das células para o meio líquido resultando em aumento no teor de MO, como foi observado.

Tabela 15 – Concentrações inicial e final e remoção de MO

<b>Tratamento</b>	<b>Inicial mg DQO/L</b>	<b>Final</b>	<b>Remoção %</b>	<b>Tratamento</b>	<b>Inicial mg DQO/L</b>	<b>Final</b>	<b>Remoção %</b>
<b>C2</b>	198	121	38,9	<b>C1</b>	92	82	11,4
<b>NE1</b>	204	96	52,8	<b>N</b>	85	156	-84,5
<b>NE2</b>	205	95	53,4	<b>S</b>	90	158	-74,9
<b>NE3</b>	199	95	52,4	<b>F</b>	83	195	-133,5
<b>SE1</b>	182	82	55,1				
<b>SE2</b>	202	85	57,8				
<b>SE3</b>	180	74	59,0				
<b>FE1</b>	192	67	65,4				
<b>FE2</b>	191	58	69,6				
<b>FE3</b>	193	47	75,9				

Fonte: O autor (2022).

Para a MO remanescente, considerando que o etanol foi todo consumido devido a sua fácil degradação, outros compostos além do LAS podem estar presentes no meio. A partir dos processos de adsorção e dessorção do LAS há a liberação de outros compostos que antes estavam adsorvidos, mas agora passam a estar biodisponíveis para degradação no meio

líquido (SOUZA *et al.*, 2016). Esses compostos agora dissolvidos podem representar parte dessa MO remanescente.

#### 4.3.2.2 Potencial redox e pH

Os resultados para o pH e potencial redox avaliados ao final da batelada estão apresentados na Tabela 16. Com a comparação entre os tratamentos controle sem (C1) e com (C2) o co-substrato, foi possível verificar que a adição do etanol não influenciou nos dois parâmetros avaliados. Entretanto, observou-se também que os tratamentos com o ferro como acceptor de elétrons e com a adição de etanol apresentaram o maior valor para pH com média de  $7,5 \pm 0,3$  e o menor valor de  $-279 \pm 16$  mV para o potencial redox.

Tabela 16 – pH e potencial redox nos reatores ao final da batelada

<b>Tratamento</b>	<b>pH</b>	<b>Potencial Redox</b>
<b>C1</b>	6,1	-307
<b>N</b>	$6,8 \pm 0,2$	$-308 \pm 14$
<b>S</b>	$6,9 \pm 0,1$	$-335 \pm 6$
<b>F</b>	$7,0 \pm 0,1$	$-314 \pm 8$
<b>C2</b>	6,2	-308
<b>NE1</b>	$6,0 \pm 0,4$	$-313 \pm 15$
<b>NE2</b>	$6,7 \pm 0,2$	$-304 \pm 10$
<b>NE3</b>	$6,4 \pm 0,2$	$-293 \pm 20$
<b>SE1</b>	$6,5 \pm 0,1$	$-329 \pm 6$
<b>SE2</b>	$6,6 \pm 0,2$	$-324 \pm 14$
<b>SE3</b>	$6,39 \pm 0,01$	$-319 \pm 5$
<b>FE1</b>	$7,45 \pm 0,05$	$-272 \pm 10$
<b>FE2</b>	$7,5 \pm 0,1$	$-297 \pm 6$
<b>FE3</b>	$7,47 \pm 0,02$	$-268 \pm 6$

Fonte: O autor (2022).

O pH é um parâmetro determinante para os microrganismos de forma geral, pois muitos aspectos dos seus metabolismos são influenciados por menor que seja sua variação. E essas pequenas variações podem desencadear processos de falência em sistemas de tratamento, principalmente os anaeróbios no qual as atividades de um microrganismo dependem da boa funcionalidade das atividades dos outros microrganismos (ZHANG *et al.*, 2010). Demirer e Chen (2004) citam que o pH na faixa entre 5,2 e 6,5 pode ser crucial para se obter alta eficiência na etapa da acidogênese na digestão anaeróbia. Ravi *et al.* (2018)

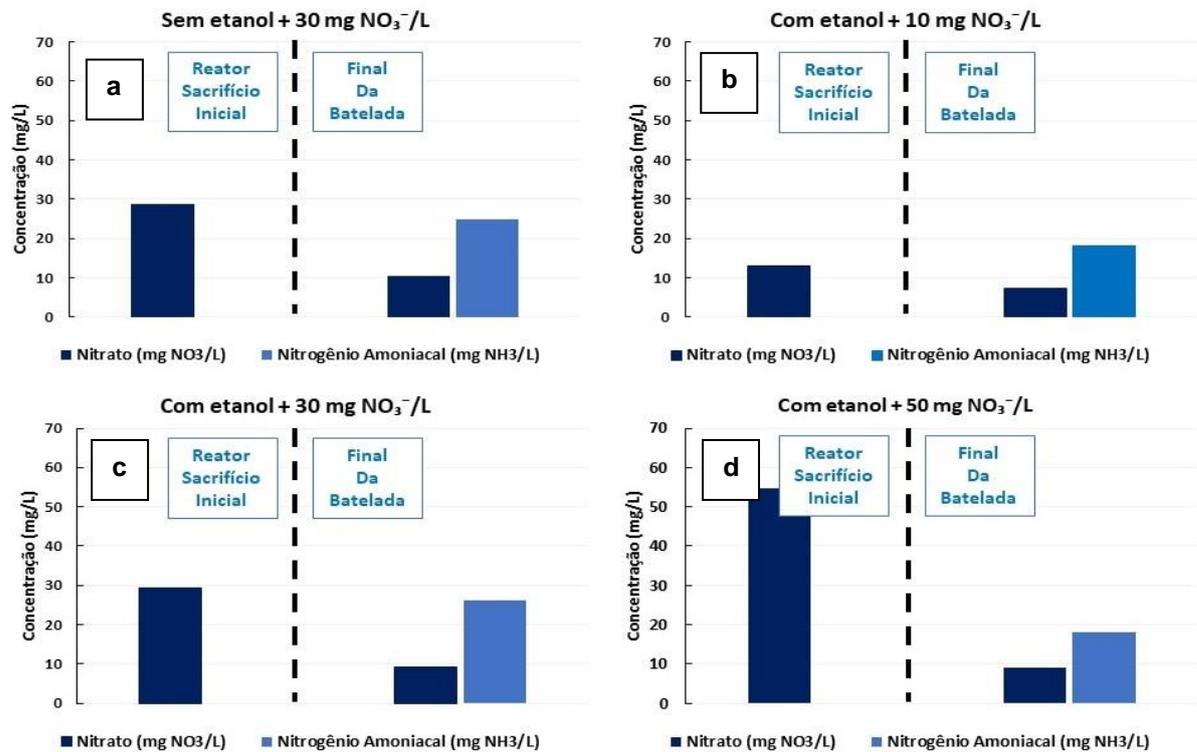
demonstraram que a produção de metano a partir da digestão de resíduos vegetais é 32% maior com pH 6 do que em meio com pH 5,5. Já Yang *et al.*, (2015), por sua vez, citaram que a melhor taxa de produção de metano a partir da digestão de resíduos alimentares se obteve com pH 8. Pois, segundo os autores, a digestão desses resíduos produz elevado volume de ácidos orgânicos, que por sua vez foram melhor consumidos nesse pH evitando a acidificação do meio e resultando na maior produção de metano.

#### 4.3.2.3 Consumo de nitrato, sulfato e ferro III

A Figura 22 apresenta o consumo de nitrato nos tratamentos que o tiveram como acceptor de elétrons. Observou-se que, independentemente da concentração adicionada inicialmente de nitrato ou a utilização ou não de co-substrato, as condições finais nos reatores nos diferentes tratamentos foram similares.

A produção de nitrogênio amoniacal comprova que o nitrato realmente serviu como acceptor de elétrons, resultando na sua redução à forma de amônia. As concentrações finais de nitrato e nitrogênio amoniacal provam a independência às condições iniciais empregadas, visto que os valores são numericamente próximos. Esse fato indica a provável relevância da concentração de biomassa empregada nos reatores, que foi igual independente do tratamento empregado. O fator biomassa pode ter sido limitante ao consumo do nitrato, sendo provavelmente essas concentrações finais nos reatores muito diluídas para serem assimiladas pelos microrganismos. Deve-se levar em consideração também que parte do nitrato provavelmente foi reduzido no processo de desnitrificação a nitrogênio gasoso, processo esse muito importante para a remoção de nitrogênio no tratamento de efluentes (BRODA, 1977; SCHEEREN *et al.*, 2011). Sobre a desnitrificação, alguns estudos demonstraram ótimos resultados de remoção de nitrato empregando o etanol como doador de elétrons. O etanol, no seu processo de conversão a acetato, doa os elétrons para a conversão de nitrato a nitrogênio gasoso (SHEN; ZHOU; WANG, 2013; SALMINEN *et al.*, 2014).

Figura 22 – Consumo de nitrato nos tratamentos (a) N, (b) NE1, (c) NE2 e (d) NE3

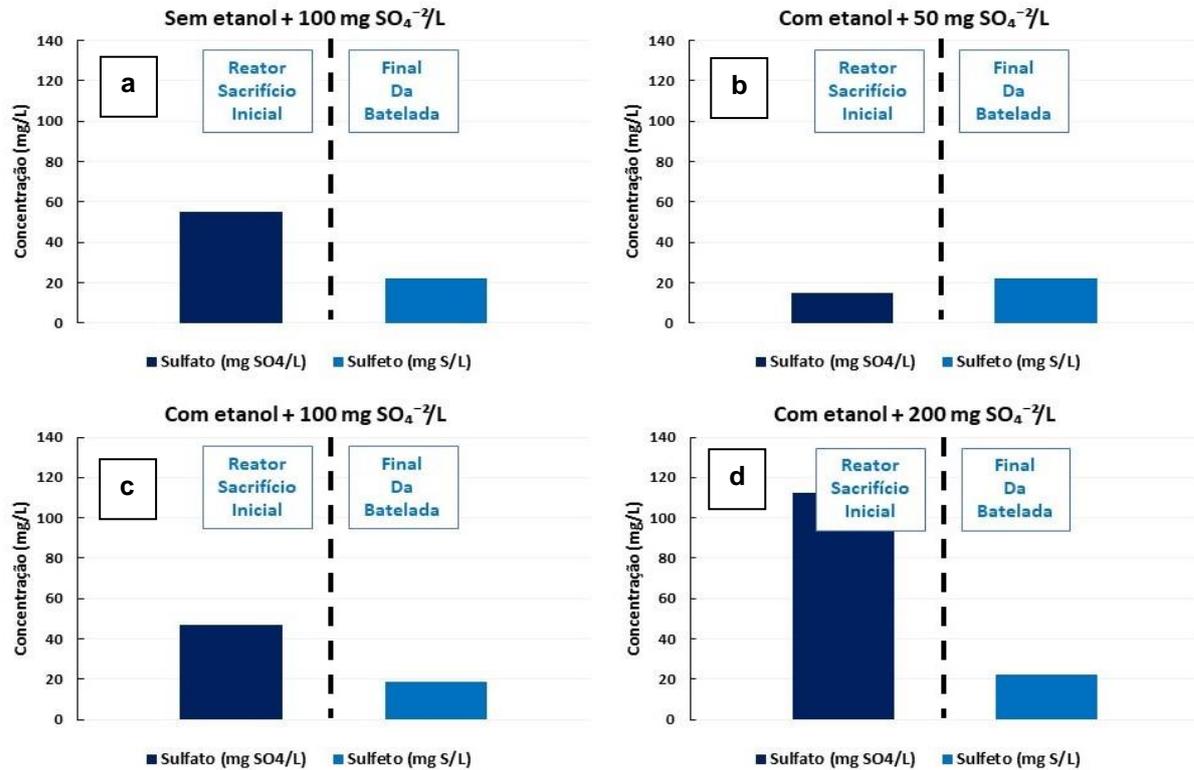


Fonte: O autor (2022).

Na Figura 23 estão apresentados os resultados relacionados ao consumo de sulfato nos tratamentos S, SE1, SE2 e SE3 e as condições finais observadas nos reatores. Como apresentado anteriormente, as condições observadas no início do experimento mostraram o rápido consumo do sulfato. E, ao final do experimento, observou-se que independente da concentração aplicada de sulfato inicialmente, todo ele foi consumido. Este fato demonstra que maiores concentrações de sulfato poderiam ter sido empregadas. Mais uma vez a utilização ou não do etanol como co-substrato não mostrou interferir no consumo do acceptor de elétrons. Da mesma forma que o nitrato, a conversão de sulfato pelas bactérias redutores de sulfato (BRS) também apresenta afinidade com a utilização de etanol como doador de elétrons. A conversão de etanol a acetato, além da própria degradação do acetato utilizam o sulfato como acceptor de elétrons. Além do hidrogênio produzido na conversão de etanol a acetato que também é utilizado nos processos da sulfetogênese (NAGPAL *et al.*, 2000; JING *et al.*, 2013).

Com relação às condições finais nos reatores, além da não presença do sulfato, observou-se concentrações similares de uma de suas formas reduzidas, o sulfeto. Dessa forma, provavelmente havendo uma limitação na produção de sulfeto ou a formação de sulfeto de hidrogênio.

Figura 23 – Consumo de sulfato nos tratamentos (a) S, (b) SE1, (c) SE2 e (d) SE3.



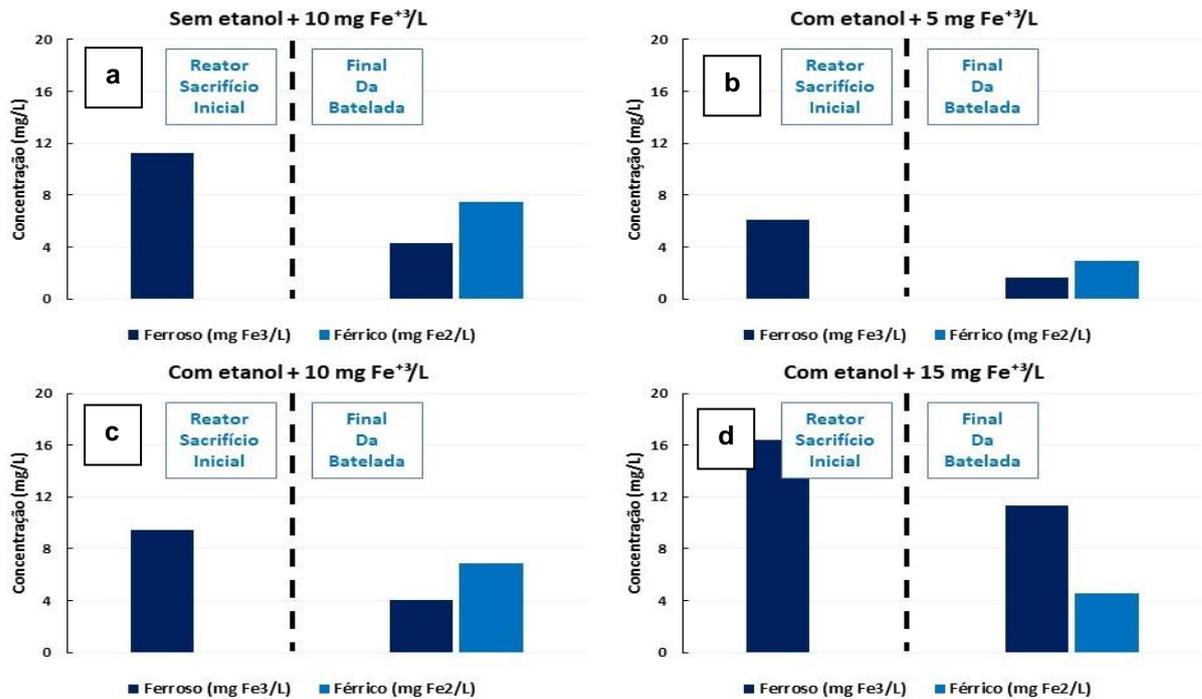
Fonte: O autor (2022).

Na figura 24 estão apresentados os resultados do consumo de ferro III (ferroso) nos tratamentos F, FE1, FE2 e FE3, além da produção de sua forma reduzida ferro II (férrico). Para o caso do ferro, observou-se diferentes comportamentos para as diferentes concentrações aplicadas. Apesar disso, da mesma forma que para o nitrato e sulfato, a adição do etanol não interferiu no consumo do aceptor de elétrons. Quanto maior a concentração de ferro aplicada, menor foi o seu consumo. O que não ocorreu para produção de ferro II, no qual a maior produção foi observada para os reatores com a concentração intermediária de ferro III, seguida do tratamento com a maior concentração e depois do tratamento com a menor concentração.

A biomassa também pode apresentar limitação no consumo do ferro, atingindo limite que impede o consumo total do aceptor. Além disso, é possível que o aumento da concentração de ferro cause algum tipo de toxicidade nos microrganismos, limitando seu consumo. Bennet e Gralnick (2019) discutem sobre a toxicidade do ferro ferroso (ferro II) em ambientes anaeróbios e de que forma esse elemento poderia prejudicar a diversidade microbiana. Uma das teorias está ligada à série de estabilidade de Irving-Williams que apresenta a estabilidade de ligações formadas com íons divalentes. Segundo essa série, o Fe<sup>+2</sup> forma ligações mais estáveis com as proteínas das células do que o cálcio (Ca<sup>+2</sup>), magnésio

( $Mg^{+2}$ ) e manganês ( $Mn^{+2}$ ), que são metais essenciais para várias proteínas intracelulares. O excesso de  $Fe^{+2}$  pode concorrer com os outros metais causando deficiência na composição proteica.

Figura 24 – Consumo de ferro III (ferroso) nos tratamentos (a) F, (b) FE1, (c) FE2 e (d) FE3



Fonte: O autor (2022).

#### 4.3.2.4 Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV)

Na avaliação, ao final do experimento, das concentrações de AOV nos reatores detectou-se a presença basicamente do ácido acético (ou etanoico), propanoico e butanoico (Tabela 17). No tratamento C1 não foi detectado nenhum dos ácidos citados. Esse fato pode ter ocorrido pois os ácidos quantificados foram gerados a partir da adição do etanol.

Ao observar os tratamentos N, S e F, os AOV foram quantificados apesar da ausência do co-substrato. Entretanto, como foi discutido no tópico referente à remoção de matéria orgânica nos reatores, os valores negativos observados mostraram o aumento da concentração de MO no meio e isso indica a provável lise celular ocorrida resultando na endogenia microbiana. Essa lise disponibiliza para outros microrganismos material intracelular das células das bactérias mortas, resultando no processo chamado de autofagia (CHEN *et al.*, 2015). Para o caso dos tratamentos N, S e F, a geração dos ácidos provavelmente ocorreu por causa da degradação desse material oriundo da lise celular das bactérias mortas.

Tabela 17 – Concentração de AOV nos reatores ao final do experimento

Tratamento	Ácidos Orgânicos Voláteis (mg/L)		
	Acético	Propanoico	Butanoico
<b>C1</b>	nd	nd	nd
<b>N</b>	99 ± 2	68 ± 6	29 ± 4
<b>S</b>	126 ± 2	71 ± 2	6 ± 2
<b>F</b>	101 ± 7	60 ± 9	17 ± 9
<b>C2</b>	66	5	19
<b>NE1</b>	129 ± 22	7 ± 1	6 ± 1
<b>NE2</b>	146 ± 22	62 ± 7	15 ± 3
<b>NE3</b>	68 ± 3	5	19
<b>SE1</b>	97 ± 23	4	9
<b>SE2</b>	151 ± 5	78 ± 2	10 ± 2
<b>SE3</b>	124 ± 14	13	6
<b>FE1</b>	160 ± 18	8 ± 1	nd
<b>FE2</b>	219 ± 2	65 ± 10	nd
<b>FE3</b>	120 ± 6	nd	nd

nd – não detectado

Fonte: O autor (2022).

Outro aspecto importante observado foi que no reator C2, além dos ácidos apresentados na tabela também foram identificados os ácidos petanoico e caproico nas concentrações de 48 e 18 mg/L, respectivamente. A esses resultados quatro possibilidades podem ser levantadas: (i) estes ácidos foram produtos da degradação do LAS; (ii) estes ácidos seriam produtos da degradação de compostos liberados pela lise celular de bactérias mortas; (iii) ácidos oriundos da disponibilização de compostos antes adsorvidos e que, pelo processo de adsorção e dessorção do LAS passam a também estarem disponíveis para serem consumidos; (iv) possibilidade de alongamento da cadeia de carbono do etanol.

Sobre a possibilidade desses ácidos serem produtos da degradação do LAS, apesar da biodegradabilidade anaeróbia do surfactante já ser comprovada, a literatura nunca apresentou os ácidos citados como produtos da degradação do mesmo. A possibilidade de degradação de outros compostos disponibilizados a partir da biomassa pela adsorção do LAS, como citado por Souza *et al.* (2016), já foi discutido anteriormente no presente estudo. Para o caso do alongamento de cadeias de ácidos carboxílicos, ele pode ocorrer por meio de  $\beta$ -oxidações reversas dos ácidos acéticos e butírico utilizando o ácido láctico ou etanol como doador de elétrons (CAVALCANTE *et al.*, 2017).

Fator importante também a ser discutido, o acúmulo de ácidos de fácil degradação como o acético é possível com a inibição da atividade dos microrganismos metanogênicos.

Levando em consideração que no experimento foi possível quantificar esse ácido, observou-se que a metanogênese a partir do ácido acético realmente foi inibida. Essa inibição ocorreu provavelmente devido à presença do LAS como já foi apresentado por Mösche e Meyer (2002) e Gavala e Ahring (2012). Também segundo esses autores, além da metanogênese, a acetogênese a partir do ácido propionico também pode ser inibida, porém com menor sensibilidade às concentrações de LAS. A concentração que gera inibição de 50% da atividade microbiológica em questão, ou IC50, apresentada por esses estudos e por Mösche e Meyer (2002) e Garcia *et al.* (2006) é, em média, 14 mg LAS/L na fase líquida. Para os reatores do experimento, em diversos momentos a concentração de LAS no meio líquido atinge esse valor, corroborando para a hipótese de inibição da metanogênese pelo surfactante.

Também discutindo sobre a inibição da atividade de microrganismos pelo LAS, Gavala e Ahring (2002) afirmaram que além das concentrações do surfactante no meio líquido, avaliar uma relação entre a massa de LAS no sistema e a massa de biomassa tem maior relevância para o aspecto toxicidade. Os autores afirmaram que valores acima de 14 na relação mg LAS/g SSV causam inibição da atividade microbiológica. Neste experimento a relação empregada nos reatores inicialmente foi de 25 mg LAS/g SVV.

#### 4.3.2.5 Biogás no *headspace*

A avaliação dos biogases no *headspace* dos reatores foi realizada ao final do experimento para a primeira batelada, ou seja, os tratamentos controles C1 e C2, os tratamentos com concentração intermediária do acceptor de elétron sem etanol (N, S e F) e com etanol (NE2, SE2 e FE2).

O gás nitrogênio, por ter sido utilizado na montagem dos reatores para purgar o *headspace* predominou em todos os tratamentos. Além disso, em nenhum dos tratamentos foi detectado a presença de metano ou de dióxido de carbono, com exceção para C2 para o CO<sub>2</sub>. No caso dos tratamentos com adição do etanol também foi detectado o hidrogênio na composição do biogás, representado aproximadamente 28% do volume. O hidrogênio, que por sua vez, é produtos dos processos de degradação da matéria orgânica e também do alongamento de cadeias. A não detecção de metano, mesmo com a adição de etanol, e o acúmulo de hidrogênio aponta mais uma vez para a provável inibição das metanogênicas pelo LAS. Não haver metano indica que a atividade das metanogênicas foi inibida. Enquanto que a detecção de hidrogênio no *headspace* indica a inibição dos microrganismos metanogênicos hidrogenotróficos, como também foi mostrado por Gavala e Ahring (2002).

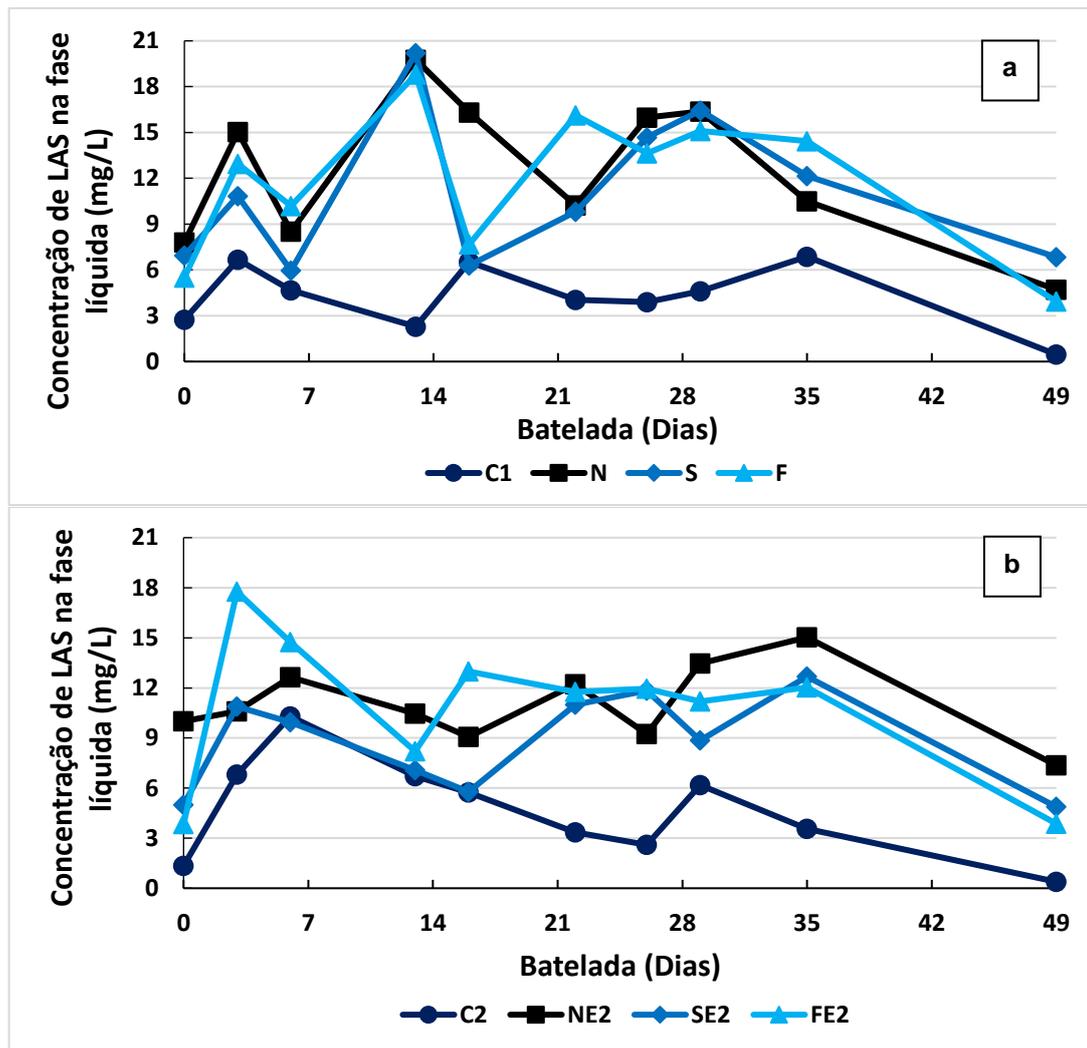
No tratamento com adição de etanol, mas com ausência do aceptor de elétrons (C2), também foi identificado a presença de dióxido de carbono numa porcentagem de aproximadamente 18% e hidrogênio a 17%. O que não ocorreu em nenhum outro tratamento, indicando que a presença do aceptor de elétron consumiu o CO<sub>2</sub> ou inibiu sua produção.

### **4.3.3 Avaliação do LAS ao longo da batelada**

A avaliação do comportamento do LAS ao longo da batelada foi realizada nos reatores controle (C1 e C2) e nos tratamentos que avaliaram a concentração intermediária de aceptores de elétrons sem (N, S e F) e com co-substrato (NE2, SE2 e FE2). Na Figura 25 pode-se observar como a concentração de LAS se comportou ao longo da batelada na fase líquida dos reatores para os tratamentos citados anteriormente.

Notou-se que nos primeiros dias, ainda provavelmente sem o processo de biodegradação anaeróbia estabelecido, o aumento da concentração de LAS indica que o surfactante tende a desadsorver da biomassa. Assim, na inoculação dos reatores o LAS rapidamente se adsorve, porém como não há degradação nos primeiros dias e com a agitação dos reatores, ele tende a se desadsorver. Porém, no período final do experimento, com o maior intervalo entre os dias avaliados, observou-se a tendência na diminuição da concentração de LAS dissolvido no líquido, identificando provável estabelecimento de uma microbiota capaz de degradar o LAS.

Figura 25 – Teor de LAS na fase líquida dos reatores durante a batelada nos tratamentos (a) sem e (b) com etanol



Fonte: O autor (2022).

O comportamento do LAS entre o período inicial e final da batelada apresentou variação com diminuições e aumentos da concentração do surfactante. As diminuições provavelmente estão relacionadas ao processo de degradação. Para o caso dos aumentos das concentrações em comparação a coleta anterior, duas hipóteses foram levantadas. A primeira está relacionada a ideia do equilíbrio que é estabelecido entre o LAS dissolvido no líquido e o que está adsorvido na biomassa. Segundo *Ou et al.* (1996), o LAS dissolvido e adsorvido tende a entrar em equilíbrio em um sistema. Ressaltando-se que esse equilíbrio não significa iguais concentrações nos dois meios, mas sim a não troca de massa de LAS entre eles. Dessa forma, após esse equilíbrio ser atingido, se não houver retirada do LAS de nenhuma das fases, o sistema permanecerá constante. Para o caso do experimento, como há o processo de degradação do surfactante que está biodisponível na fase líquida, o LAS adsorvido tende a se desadsorver para voltar ao equilíbrio. A segunda hipótese está ligada ao fato de que o meio do

reator é bastante restrito. Isto é, a fonte de carbono é seletiva, podendo ser o etanol, considerado de fácil degradação, e o LAS, de potencial recalcitrância em ambientes anaeróbios, ou apenas o LAS. Além de estarem em baixas concentrações. Outra limitação dos reatores são os aceptores de elétrons, podendo ser o nitrato, sulfato ou ferro individualmente ou a ausência deles. Dessa forma, os microrganismos que não são capazes de utilizar esses componentes morrem e podem causar a desestruturação da biomassa, liberando mais LAS para o meio líquido.

#### **4.3.4 Balanço de massa de LAS**

A quantificação de LAS no inóculo antes da montagem mostrou que o mesmo possuía a concentração de aproximadamente 1,4 mg LAS/g lodo seco. Levando em consideração a massa de lodo inoculada no reator e a massa de LAS inserida para que o meio permanecesse inicialmente à 20 mg LAS/L, a massa total de LAS adicionada no reator na montagem foi de 12,3 mg. Essa massa foi levada em consideração como condição inicial nos cálculos de eficiência de remoção do surfactante.

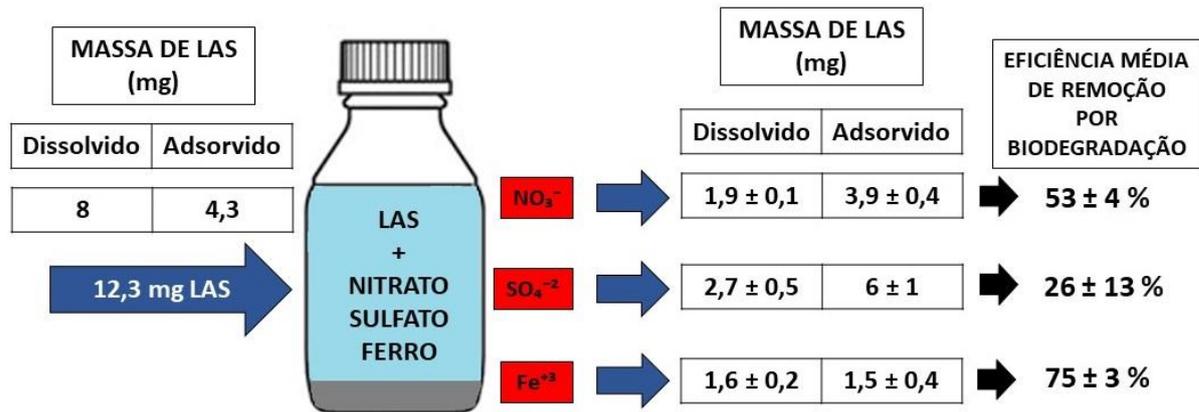
Após o final da batelada, a quantificação de LAS no meio líquido e no lodo dos reatores com tratamento controle sem o co-substrato (C1) e com o co-substrato (C2) não apresentaram remoção de LAS. Esses resultados indicam que a presença de um aceptor de elétrons poderia ser essencial para ocorrer a biodegradação do LAS.

Para os tratamentos com adição dos diferentes aceptores de elétrons avaliados, mas sem adição do co-substrato, os resultados de remoção de LAS estão apresentados na Figura 26. Na figura é apresentado a massa de LAS fornecida inicialmente ao reator e as massas de LAS observadas ao final do experimento para cada tratamento. O tratamento com adição de ferro-III sem a presença do etanol apresentou o melhor resultado de eficiência de remoção de LAS de todo o experimento. Assim observando que o etanol, na concentração aplicada neste experimento, não contribuiu para uma maior degradação de LAS.

O fato de os tratamentos sem a adição de etanol apresentarem melhores resultados para o uso de nitrato e ferro e resultados similares para o uso de sulfato na remoção de LAS está ligado provavelmente à presença de outras fontes de carbono. Como foi discutido anteriormente, nos reatores com ausência do co-substrato observou-se aumento na concentração de matéria orgânica. Esse processo provavelmente ocorreu pela morte e lise celular das bactérias que não se adaptaram ao meio, principalmente sem o etanol. Essa matéria orgânica liberada para o meio foi utilizada em parte pelos microrganismos e

contribuíram para uma maior degradação do LAS. Além disso, a ausência de AOV nesses tratamentos indica que a matéria orgânica mais complexa que esses ácidos provavelmente contribui mais para a remoção do surfactante. Visto que os AOV são uma matéria orgânica mais simples e de mais fácil degradação.

Figura 26 – Balanço de massa de LAS nos tratamentos sem adição do co-substrato

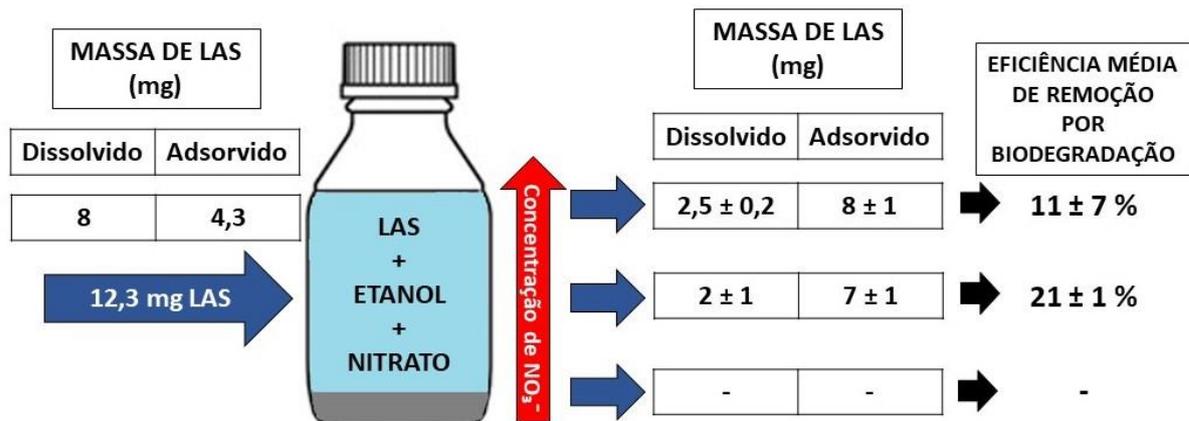


Fonte: O autor (2022).

Na Figura 27 estão apresentados os resultados de eficiência de remoção de LAS para os tratamentos que avaliaram a utilização do nitrato como acceptor de elétrons com a adição de etanol. Na figura é apresentado a massa de LAS fornecida inicialmente ao reator e as massas de LAS observadas ao final do experimento para cada tratamento. Na maior concentração de nitrato avaliado não foi observada remoção de LAS. A concentração intermediária avaliada apresentou a melhor eficiência de remoção de LAS por biodegradação dos tratamentos avaliando o nitrato com o etanol.

Bactérias redutoras de nitrato já foram relacionadas em estudos à biodegradação do LAS. Macedo *et al.* (2015) avaliando a degradação de LAS em reator AFBR utilizando etanol e sacarose como cosubstrato, observou que dos 37 gêneros identificados na biomassa do reator, 22 são capazes de reduzir o nitrato o utilizando como acceptor de elétrons. Avaliando também o emprego de AFBR para remoção de LAS em condições desnitrificantes, Andrade *et al.* (2020) observou eficiências de remoção do surfactante acima de 90%. Dessa forma, bactérias redutoras de nitrato estão potencialmente relacionadas à degradação do LAS.

Figura 27 – Balanço de massa de LAS nos tratamentos com nitrato e o co-substrato

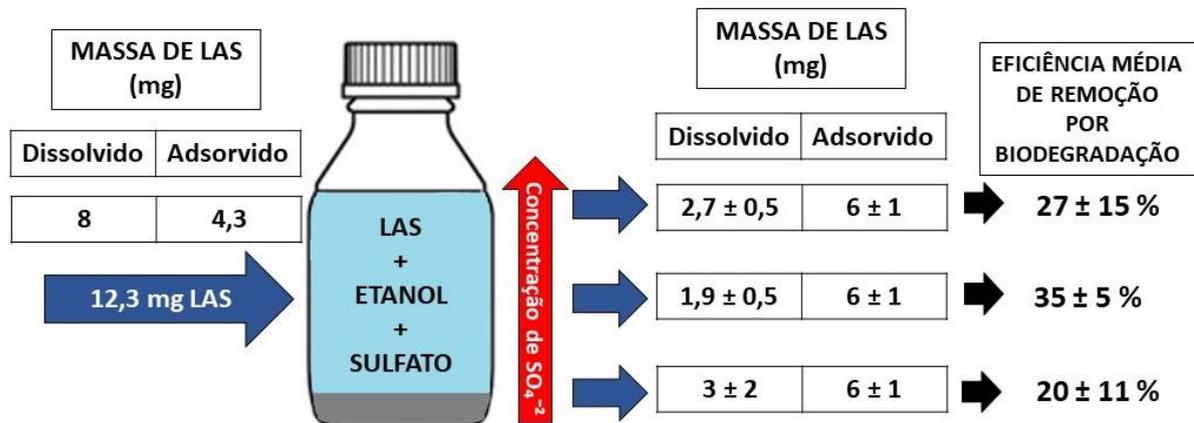


Fonte: O autor (2022).

Os resultados para os tratamentos com o sulfato como aceptor de elétrons na presença do co-substrato estão apresentados na Figura 28. Na figura é apresentado a massa de LAS fornecida inicialmente ao reator e as massas de LAS observadas ao final do experimento para cada tratamento. Apesar das diferentes concentrações avaliadas, as eficiências são próximas numericamente e podem indicar uma limitação na utilização desse aceptor de elétrons na degradação do LAS. Mesmo com esse fato, como foi discutido anteriormente que o sulfato foi totalmente consumido nos reatores independentes da concentração aplicada inicialmente, prováveis maiores concentrações podem ter uma maior influência na degradação do LAS.

Bactérias que reduzem o sulfato já foram relacionadas à degradação do LAS, utilizando o surfactante como fonte de sulfato, pela dessulfonação, e também como fonte de carbono. Motteran *et al.* (2018) identificou diversos grupos de bactérias redutoras de sulfato em reator FBR tratando efluente de lavanderia comercial, com destaque para o gênero *Desulfovibrio*. Duarte *et al.* (2010) observou um enriquecimento da diversidade microbiana de BRS em reator HAIB tratando efluente sintético contendo LAS. Apesar das BRS estarem potencialmente envolvidas na degradação do LAS, Huang *et al.* (2004) afirmou que ambientes desnitrificantes apresentam maior influência na degradação de LAS do que meios desnitrificantes e redutores de sulfato. Os autores chegaram a essa conclusão avaliando a aplicação de um wetland de fluxo subsuperficial tratando efluente urbano.

Figura 28 – Balanço de massa de LAS nos tratamentos com sulfato e o co-substrato



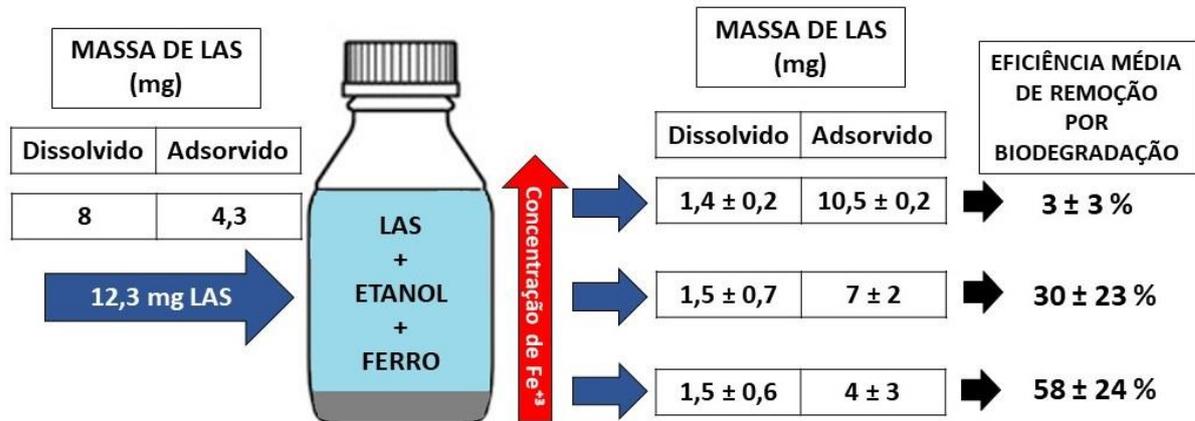
Fonte: O autor (2022).

Finalmente na Figura 29 estão apresentados os resultados referentes às eficiências de remoção de LAS nos tratamentos com a presença do ferro-III como acceptor de elétrons com a adição do co-substrato. Na figura é apresentado a massa de LAS fornecida inicialmente ao reator e as massas de LAS observadas ao final do experimento para cada tratamento. A menor concentração de ferro avaliada apresentou ao final da batelada o maior valor de eficiência de remoção de LAS para os tratamentos com o etanol. O aumento da concentração de ferro aplicada mostrou uma redução na degradação de LAS, podendo indicar uma provável limitação na utilização desse acceptor de elétrons com, talvez, um efeito tóxico nos microrganismos.

Apesar dos valores observados de eficiência de degradação de LAS, o surfactante geralmente é relacionado à redução de ferro pelo seu efeito inibitório no grupo de microrganismos envolvidos no processo. De acordo com Elsgaard, Peterson e Deboz (2001), pelo poder inibitório causado pela interação entre o LAS e a membrana celular das bactérias, a redução do ferro foi afetada negativamente em solos de agricultura contaminados com LAS. Kristiansen *et al.* (2003) também avaliou o efeito do surfactante no solo e chegou à conclusão de que a diminuição da redução do ferro se dá pela adsorção do LAS no solo, onde também se acumulam o ferro e os microrganismos redutores desse metal.

Não só a redução de ferro pode sofrer inibição devido ao LAS. Elsgaard (2010) mostrou que a redução do sulfato também pode ser completamente inibida pela presença em altas concentrações do surfactante. Entretanto, o autor também mostrou que as bactérias redutoras de nitrato apresentam grande resistência ao efeito tóxico de LAS e também de outros compostos xenobióticos como o fenantreno e o acetafeno.

Figura 29 – Balanço de massa de LAS nos tratamentos com ferro e o co-substrato



Fonte: O autor (2022).

Entre os três aceptores de elétrons avaliados, o ferro induziu a maior eficiência de remoção de LAS por biodegradação. Esse metal é considerado importante para os microrganismos no metabolismo de compostos e de energia. O ferro é um elemento traço que é componente essencial nas células das bactérias, que a menor deficiência desse componente pode acarretar na inativação do microrganismo. Além de servir como aceptor de elétrons na digestão anaeróbia (NEWMAN; KOLTER, 2000; WEI *et al.*, 2018). Essa dupla funcionalidade do ferro pode ter contribuído para os altos valores de eficiência de degradação de LAS observados no presente trabalho. A diversidade microbiana desenvolvida a partir da presença desse metal pode também ter sido determinante para os resultados obtidos.

Os valores obtidos para eficiência de remoção de LAS por degradação podem ser atribuídos, além da presença dos aceptores de elétrons, também ao tempo de batelada. Na avaliação da concentração de LAS no meio líquido ao longo da batelada observou-se o seu decaimento nas últimas semanas do experimento, indicando que uma biomassa mais adaptada ao surfactante estava se estabelecendo e conseguindo degradá-lo. No caso de reatores contínuos a remoção de LAS é limitante devido ao TDH.

Compostos recalcitrantes na digestão anaeróbia requerem maiores TDH para serem degradados e a inviabilidade técnica de trabalhar com TDH mais elevados em reatores contínuos resulta nessa limitação. Também trabalhando com reatores em batelada, Marinho (2015) avaliou a influência de diversos parâmetros na degradação do LAS. Os parâmetros foram tempo de batelada, concentração de substrato, pH, fonte de LAS, temperatura e concentração de cálcio. A maior eficiência de degradação de LAS observada pela autora foi de 72% para o maior tempo de batelada avaliado que foi de 40 dias. Além de encontrar

valores de degradação de LAS semelhantes ao do presente trabalho, a autora também mostrou que maiores tempos de batelada resultam em maiores eficiências de degradação.

#### 4.3.5 Experimento abiótico

O experimento abiótico foi realizado para observar qual a parcela do LAS inicial dos reatores iria se adsorver à biomassa e qual a possível influência que esse processo de adsorção poderia receber com a presença dos aceptores de elétrons. Os reatores abióticos que representaram os dois tratamentos controle (AB1 e AB2), ou seja, sem e com etanol, respectivamente, mas sem a presença de qualquer acceptor de elétrons, mostraram que a adição do co-substrato não interfere na adsorção do LAS.

Com os resultados foi possível notar que aproximadamente 45,2% do LAS inicialmente adicionados na fase líquida dos reatores estavam adsorvidos à biomassa ao final do experimento. Assim, ficando dissolvido uma concentração de LAS de aproximadamente  $10,96 \pm 0,04$  mg/L e evidenciado a não influência do etanol nesse processo.

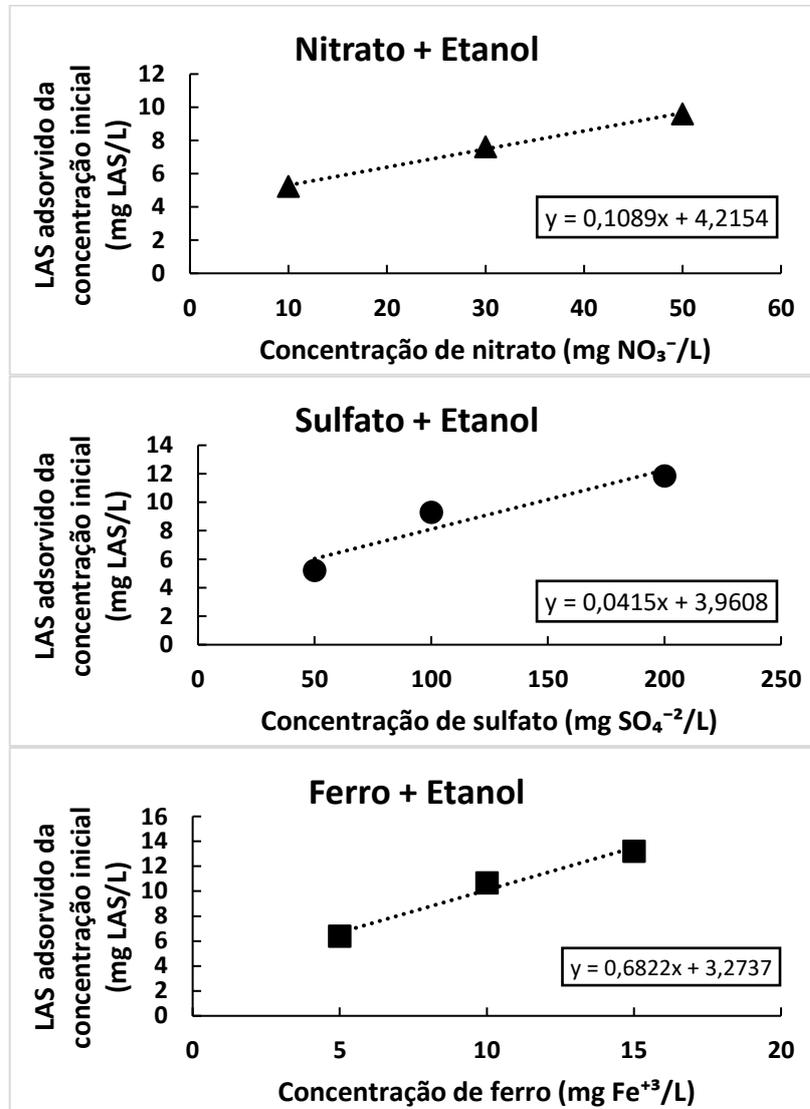
Para os tratamentos sem adição do etanol avaliando a concentração intermediária dos aceptores de elétrons, as parcelas do LAS inicialmente adicionado que se adsorveram à biomassa foram de aproximadamente 38,8%, 45,3% e 59,1% para nitrato, sulfato e ferro, respectivamente. Observa-se que quando comparados ao AB1, o reator com nitrato apresentou menor valor de LAS adsorvido, enquanto que o reator com ferro apresentou valores superiores ao AB1. No caso do reator com sulfato, na concentração intermediária, não foi observada diferença numérica significativa.

Nos casos nos quais adicionou-se o acceptor de elétrons e o co-substrato, foi observado uma alteração no processo de adsorção quando comparado aos tratamentos controle e também às diferentes concentrações dos compostos adicionados. A Figura 30 apresenta os resultados para os reatores abióticos no qual adicionou-se o nitrato, sulfato e ferro em diferentes concentrações. Quando comparado ao reator AB2 (abiótico com etanol), observa-se que a menor concentração avaliada dos compostos resultou em menor parcela do LAS adsorvido à biomassa.

Na concentração intermediária avaliada os resultados se assemelham aos reatores sem etanol, mais uma vez evidenciando a não influência desse co-substrato nos processos físico-químicos de interação entre surfactante e biomassa inativada. Já no caso dos reatores com a maior concentração avaliada do acceptor de elétrons observou-se maior parcela de LAS adsorvido. Para comparação apenas entre as diferentes concentrações avaliadas, observou-se

que independente do acceptor de elétrons utilizado, o aumento da concentração influencia positivamente na massa de LAS que se adsorve à biomassa.

Figura 30 – Resultados do experimento abiótico para os reatores com etanol



Fonte: O autor (2022).

Pelo coeficiente angular da linha de tendência observou-se que o ferro teve maior capacidade de influenciar o LAS em se adsorver. Esse resultado pode estar ligado à carga positiva do íon de Fe III, em contraste com a carga negativa do LAS quando dissolvido. Ou *et al.* (1996) afirmaram que, além da estrutura molecular do LAS (porção hidrofóbica e hidrofílica), as cargas entre o surfactante e a superfície ao qual o composto está adsorvido podem interferir no processo.

O LAS é classificado como surfactante aniônico devido a carga negativa do grupo sulfato ligado ao anel aromático. Então nos tratamentos que receberam o Ferro III (Fe<sup>+3</sup>) é

possível que esse elemento tenha se acumulado na biomassa e criado na superfície uma região carregada positivamente, que assim atraiu o LAS carregado negativamente. Ainda segundo Ou *et al.* (1996), como o LAS está adsorvido por meio de sua porção hidrofílica (grupo sulfonil) voltada para biomassa, a parte hidrofóbica do LAS (cadeia alquílica) está voltada para o meio aquoso. Assim, a parte hidrofóbica de outras moléculas de LAS dissolvido se ligam por força de Van der Waals àquela camada hidrofóbica formada na superfície da biomassa, resultando em uma bicamada de LAS. A formação dessa bicamada aumenta consideravelmente a parcela de LAS adsorvido e pode explicar o mais rápido crescimento observado para a reta nos tratamentos com ferro.

Essa interação de adsorção entre o LAS e uma superfície também foi mostrado por Faccenda *et al.* (2021). Os autores mostraram que em meio ácido maior parcela de LAS se adsorve em carvão ativado proveniente de resíduos da raspagem de couro. Eles explicam que isso ocorreu porque o carvão ativado tem uma superfície protonada por grupos hidroxil e carboxil ( $-\text{OH}_2^+$  e  $\text{COOH}_2^+$ ) que atraem o LAS. Já em um meio alcalino, o íon  $\text{OH}^-$  concorre com o LAS para se ligar a essa superfície. Oliver-Rodríguez *et al.* (2015) apresentou diferentes modelos de adsorção, discutindo como o LAS pode se adsorver em solo quando em diferentes concentrações. Um desses modelos relata a interação entre as partes hidrofóbicas de duas moléculas de LAS como também foi citado por Ou *et al.* (1996).

#### 4.3.6 Biologia molecular

No Apêndice A está apresentado os resultados de abundância relativa referente ao inóculo utilizado durante os experimentos desse estudo. Os cinco gêneros com maiores valores observados foram *Riemerella* (5,60%), *Methanolinea* (3,11%), *Dehalococcoides* (2,73%), *Thermacetogenium* (2,70%) e *Clostridium* (2,57%). Desses grupos citados, apenas o *Clostridium* foi identificado na biomassa após passar pelos tratamentos. No geral, 41 dos 57 gêneros identificados no inóculo não foram observados nas amostras de lodo após o experimento.

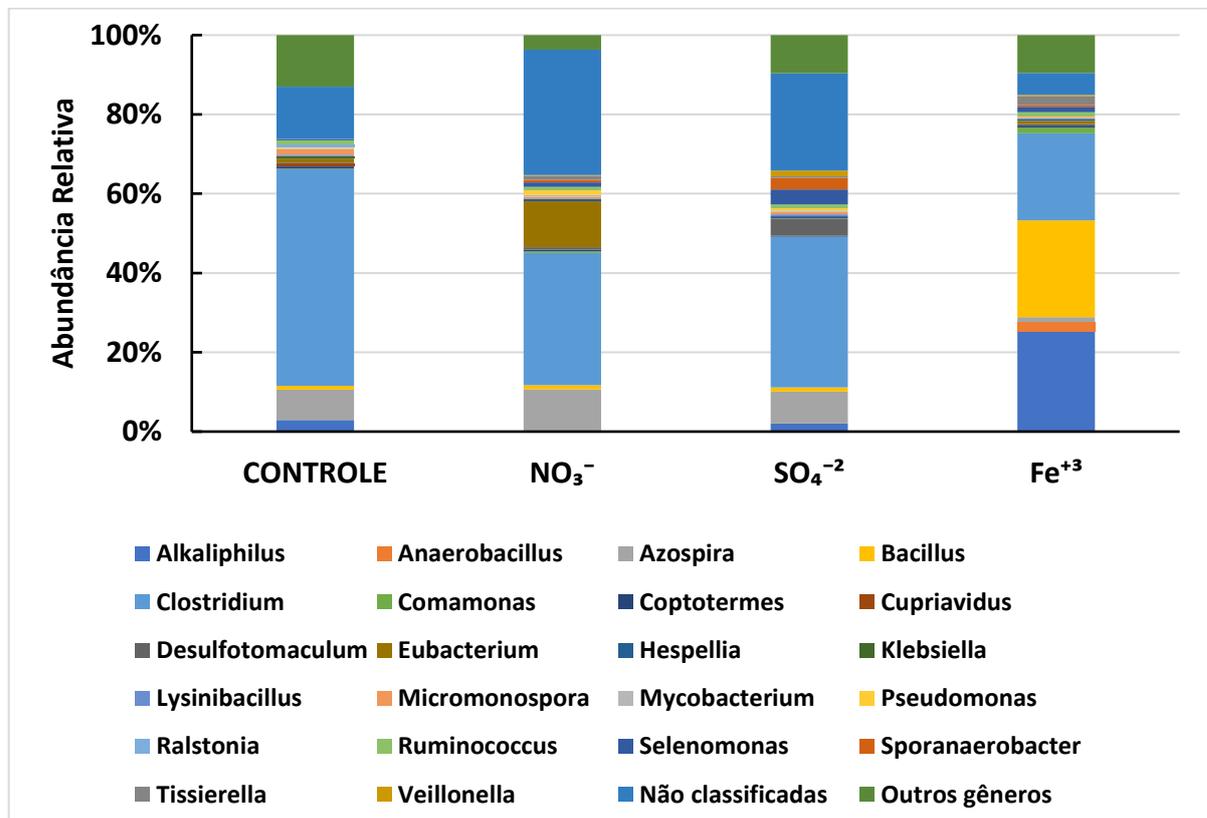
As bactérias do gênero *Riemerella* são gram-negativas que podem crescer em ambientes aeróbios, anaeróbios ou microaerados. Hu *et al.* (2010) apresentaram um estudo evidenciando a resistência dos biofilmes desenvolvidos pelas bactérias desse gênero à tratamentos com antibióticos ou detergentes. As Archaeas do gênero *Methanolinea*, que são estritamente anaeróbias, utilizam majoritariamente formiato, dióxido de carbono e hidrogênio para produzir metano (IMACHI *et al.*, 2008; SAKAI *et al.*, 2012). A ausência desses

microrganismos nas amostras de lodo após o experimento, além de outros metanogênicos, pode explicar, além de outros fatores já discutidos, não ter sido observado metano entre os biogases no *headspace* dos reatores ao final da batelada.

O gênero *Dehalococcoides* é especializado na descloração com redução do cloro. Essas bactérias utilizam compostos halogenados como clorobenzenos, cloronaftalenos e bifenilclorinatos como aceptores de elétrons e o hidrogênio como doador de elétrons no seu metabolismo (JAYACHANDRAN; GÖRISCH; ADRIAN, 2003; SESHADRI *et al.*, 2005). As bactérias do gênero *Thermacetogenium* são tipicamente homoacetogênicas que podem se desenvolver utilizando metanol, piruvato e a combinação hidrogênio e dióxido de carbono. Segundo a literatura, elas também podem se desenvolver em meio com acetato quando exercendo o papel de co-metabolismo com microrganismo que consuma o hidrogênio como as metanogênicas hidrogenotróficas (HATTORI *et al.*, 2005; OEHLER *et al.*, 2012; KELLER; SCHINK; MÜLLER, 2019).

Na Figura 31 está apresentado as abundâncias relativas dos gêneros que mais se destacaram após a biomassa ser submetidas nos tratamentos controle e com nitrato, sulfato e ferro como aceptores de elétrons.

Figura 31 – Principais grupos de microrganismos identificados na biomassa após os tratamentos do experimento



No Apêndice B encontram-se mais detalhadas as abundâncias relativas referentes aos gêneros identificados na biomassa do tratamento controle (C2), ou seja, aquele que não recebeu nitrato, sulfato ou ferro como acceptor de elétrons. Os três gêneros com maiores abundâncias relativas foram o *Clostridium* (54,64%), *Azospira* (7,72%) e *Alkaliphilus* (2,90%).

Dentre os diferentes tratamentos, o controle foi o que apresentou a maior abundância relativa para o gênero *Clostridium*, com aumento superior a 50%. Segundo Koendjblharle, Wlcersma e Kranenburg (2018) esses microrganismos podem converter vários carboidratos a acetato e succinato, apontando esses dois produtos como os seus principais. Além disso, eles são capazes de utilizar grupos sulfonil como fonte de carbono e enxofre. Podendo assim estar envolvidas na degradação do LAS nas etapas da quebra do anel aromático e dessulfonação (DENGER *et al.*, 1996; CHIEN, 2005). Carosia *et al.* (2014) identificou o gênero *Clostridium* com abundância expressiva em reator anaeróbio de leito fluidificado tratando um efluente contendo sabão em pó como fonte de LAS. Oliveira *et al.* (2010) testou diferentes materiais de suporte em reatores anaeróbios de leito fluido, como carvão ativado, argila expandida e areia, tratando efluente de criação suína com suplementação de LAS e bactérias desse gênero foram identificadas na sua biomassa. Também utilizando reator anaeróbio de leito fluido e etanol e surfactantes não iônicos como co-substratos, Motteran *et al.* (2018) também identificou o gênero *Clostridium* na biomassa do reator que tratava efluente de lavanderia comercial.

Dentre os gêneros identificados na biomassa do reator controle, observou-se três deles que não foram identificados nos demais tratamentos, que são: *Cupriavidus* (0,79%), *Ralstonia* (0,65%) e *Klebsiella* (0,49%). Levando em consideração as condições limitantes impostas nesse tratamento, apenas com adição de LAS e etanol, essas bactérias podem estar envolvidas na degradação do surfactante.

O gênero *Cupriavidus* já foi relacionado à degradação de alcanos, toluenos e hidrocarbonetos aromáticos, além dos seus metabólitos (BACOSA; SUTO; INOUE, 2012; TOFALOS *et al.*, 2018). Denger *et al.* (2008) aponta a utilização de compostos organosulfonados como fonte de carbono por essas bactérias e Martínez-Pascual *et al.* (2015) mostraram um enriquecimento desse gênero em solo contaminado com LAS após oxidação química seguida de bioestimulação pela adição de nutrientes e aeração.

Com relação ao gênero *Ralstonia*, Farzaneh *et al.* (2010) imobilizaram e isolaram uma cepa de bactérias desse gênero em um sistema de tratamentos de efluentes aplicado para biodegradação de surfactantes aniônicos. Já as bactérias do gênero *Klebsiella* são aeróbias

facultativas, podendo realizar seu metabolismo pela respiração aeróbia ou pela fermentação. Rhan *et al.* (2016) observaram eficiências de degradação de LAS acima de 90%, sendo esses resultados atribuídos a um mecanismo de co-metabolismo entre bactérias do gênero *Klebsiella* e do gênero *Enterobacter*. Khleifat *et al.* (2008), por sua vez, apontaram o enriquecimento das bactérias desse gênero em um solo irrigado com esgoto contendo LAS.

No Apêndice C estão apresentados mais detalhados os gêneros identificados e considerados relevantes na avaliação da biomassa proveniente do reator que recebeu o nitrato como acceptor de elétrons. Os três gêneros de maior abundância relativa foram *Clostridium* (33,36%), *Eubacterium* (11,55%) e *Azospira* (10,34%).

As *Eubacterium* são obrigatoriamente aneróbias e elas podem utilizar o carbono de benzoatos, aldeídos e fenóis para produzir butirato e acetato (MECHICHI *et al.*, 1998; UEMATSU; HOSHINO, 1996). O gênero *Azospira* é apresentado na literatura como redutor de perclorato e nitrato, com preferência para o perclorato quando na presença dos dois aceptores de elétrons, além de também estar relacionado à fixação de nitrogênio (BAE *et al.*, 2007; GUARINO *et al.*, 2020). Com relação ao LAS, ele é apontado como catalizador de compostos aromáticos como o benzoato. E por causa do grupo aromático presente na estrutura molecular do LAS pode estar envolvido na degradação, visto que sua abundância relativa aumentou em todos os tratamentos em comparação à avaliação do inóculo (BERGEY; HOLT, 1994). Uma caracterização do biofilme do reator tratando substrato sintético contendo LAS, apresentado por Oliveira *et al.* (2012), também mostraram aumento da abundância relativa do gênero *Azospira*.

O Apêndice D apresenta em mais detalhes os gêneros identificados na biomassa do reator que recebeu sulfato como acceptor de elétrons. Os três gêneros de maiores destaque foram *Clostridium* (38,07%), *Azospira* (8,09%) e *Desulfotomaculum* (4,28%). O gênero *Desulfotomaculum* é caracterizado por bactérias anaeróbias obrigatórias e redutoras de sulfato. Ele foi identificado em todas as amostras, incluindo o inóculo, mas destacou-se com a maior abundância relativa no tratamento com adição de sulfato. Porém, por ter sido encontrado também nos outros três tratamentos aplicados à biomassa no qual não houve adição de desse acceptor de elétrons, pode-se supor que essas bactérias possivelmente utilizaram o sulfato proveniente da molécula de LAS.

O gênero *Sporanaerobacter* foi identificado na biomassa dos reatores que receberam um dos três aceptores de elétrons avaliados no estudo, com destaque para o tratamento com sulfato com uma abundância relativa de 2,93%. Essas bactérias são estritamente anaeróbias que quando na presença de extrato de carne podem fermentar aminoácidos e peptídeos. E são

mineralizados por elas a dióxido de carbono, hidrogênio e acetato. A literatura indica que as bactérias desse gênero utilizam o enxofre elementar como aceptor de elétrons, e não o sulfato, indicando a presença dessa forma do enxofre nos reatores após a redução do sulfato por outras bactérias (HERNANDEZ-EUGENIO *et al.*, 2002).

No Apêndice E estão apresentados em mais detalhes os gêneros com abundâncias relativas relevantes observadas na biomassa do reator que recebeu o ferro III para servir como aceptor de elétrons. Os três gêneros de maiores abundâncias relativas foram *Alkaliphilus* (25,30%), *Bacillus* (24,34%) e *Clostridium* (22,06%).

Estritamente anaeróbias, são bactérias do gênero *Alkaliphilus* são típicas de ambientes alcalinos, algumas presentes em ambientes de elevado pH, apesar do pH na faixa da neutralidade observado nos reatores do experimento. Com relação ao seu metabolismo, elas em sua maioria utilizam extrato de carne, aminoácidos e peptídeos como doador de elétrons. Algumas espécies desse gênero também podem utilizar açúcares e ácidos orgânicos como fonte de carbono. A sua abundância relativa significativamente maior no tratamento com ferro se deve ao fato delas serem grandes redutoras de compostos desse metal. O gênero *Alkaliphilus* também é apontado como redutor de enxofre e, por apresentar aumento na abundância relativa em todas as amostras quando comparadas ao inóculo, podem estar envolvidas na degradação do LAS. (ZHILINA *et al.*, 2009; ZAKHARYUK *et al.*, 2017; WU *et al.*, 2010; POSTEC *et al.*, 2021).

As bactérias do gênero *Bacillus* são gram-positivas e aeróbias ou anaeróbias facultativas. Elas são formadoras de esporos e são capazes de resistir ao calor, frio, radiação e até, em alguns casos, à desinfecção. Potencialmente envolvidos na degradação do LAS, esses microrganismos são apontados como responsáveis pela  $\beta$ -oxidação da cadeia alquílica e também degradação do grupo sulfonfenil (WILLETS; CAIN, 1974). Corroborando para isso, no trabalho de Hidayat (2011) avaliando os parâmetros pH, temperatura e velocidade de agitação na degradação de lipídios e detergentes por culturas de *Bacillus*, o autor observou uma remoção de LAS acima de 90%. O notável aumento da abundância relativa observada para o tratamento com o ferro como aceptor de elétrons pode ser explicado pelo fato de que essas bactérias tem como característica a grande importância do ferro nos seus processos metabólicos e também como redutoras desse metal (OLLINGER *et al.*, 2006; POLLOCK *et al.*, 2007).

Outros dois gêneros que foram identificadas na biomassa do tratamento que recebeu o ferro foram o *Anaerobacillus* (2,32%) e o *Comamonas* (1,42%). O primeiro foi identificado apenas nesse tratamento e o segundo também foi identificado, porém com menor abundância

relativa, nos tratamentos controle e com adição de nitrato. As bactérias do gênero *Anaerobacillus* são quimiorganotróficas, mesofílicas e de estrutura celular gram-positiva. Podem ser estritamente anaeróbias ou tolerantes ao oxigênio e também são obrigatoriamente ou moderadamente alcalifílicas (pH 9 – 11) e halofílicas. A maioria das espécies são capazes de hidrolisar e utilizar carboidratos poliméricos (ZARVAZINA *et al.*, 2009).

Apesar dos reatores apresentarem pH considerados na faixa de neutralidade, bactérias do gênero *Anaerobacillus* já foram encontradas em ambientes onde ocorrem redução de ferro III. Chistyakova *et al.* (2010) afirma que esse gênero não é capaz de reduzir o ferro, porém seu estudo apresentou a possibilidade de uma cultura binária com o gênero *Geoalkalibacter*. Esse processo se deu, segundo os autores, pois as *Anaerobacillus* produzem acetato, formato, lactato e etanol a partir do consumo de carboidratos. Esses produtos são então utilizados pelas *Geoalkalibacter* para a redução do ferro III.

Já as bactérias do gênero *Comamonas* são gram-negativas, não fermentativas, incluindo espécies aeróbias ou anaeróbias facultativas (WILLEMS; DE VOS, 2006). Elas são apontadas como redutores de ferro III e nitrato, sendo muito importantes no processo de desnitrificação (LI *et al.*, 2022; WU *et al.*, 2010; GUMAELIUS *et al.*, 2001). Como fonte de carbonos, as bactérias do gênero *Comamonas* são capazes de utilizar ácidos carboxílicos, aminoácidos e compostos aromáticos como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, podendo então potencialmente estarem envolvidas na degradação do LAS (GOYAL; ZYLSTRA, 1996; BOON *et al.*, 2000). Duarte *et al.* (2015), operando reatores sequenciais em batelada em condições desnitrificantes para degradar o LAS, identificaram bactérias com genes similares às pertencentes ao gênero das *Comamonas*.

Dentre os gêneros não identificados no inóculo, mas com abundância relativa relevantes em algumas das demais amostras após aplicação dos tratamentos com o LAS destacam-se o *Lysinibacillus*, *Pseudomonas* e *Selenomonas*. As abundâncias relativas observadas desses gêneros após aplicação dos diferentes tratamentos do experimento estão apresentadas na Tabela 18. A ocorrência desses grupos apenas na biomassa após o seu contato com a maior concentração de LAS pode indicar seus envolvimento com a degradação do surfactante.

Tabela 19 – Abundância relativa nas amostras de biomassa de gêneros ausentes no inóculo após os tratamentos

GÊNERO	TRATAMENTO / ABUNDÂNCIA RELATIVA (%)			
	CONTROLE	NITRATO	SULFATO	FERRO
<i>Lysinibacillus</i>	0,38	-	0,43	0,11
<i>Pseudomonas</i>	0,28	1,10	0,59	0,15
<i>Selenomonas</i>	0,26	1,06	3,77	1,39

Fonte: O autor (2022).

Adekanmbi e Usinola (2017) identificaram o enriquecimento e isolaram bactérias do gênero *Lysinibacillus* após enriquecerem a biomassa de efluente e sedimentos de uma fábrica de detergente e uma lavanderia em um meio tamponado de fosfato com suplementação de dodecil sulfato de sódio, o homólogo de LAS com 12 carbonos na cadeia alquílica.

Apesar de geralmente serem aeróbias, algumas espécies de bactérias do gênero *Pseudomonas* podem utilizar o nitrato como aceptor de elétrons. (ASOK; JISHA, 2013). A utilização do nitrato pelas *Pseudomonas* foi apontada, por Soberón-Chávez *et al.* (1996), como processo envolvido na degradação do LAS. Também sobre a relação ao seu potencial envolvimento na degradação do surfactante, Asok e Jisha (2012) isolaram e caracterizaram algumas de suas espécies em amostras de solos contaminados com detergentes. Almendariz *et al.* (2001) avaliaram reatores anaeróbios enriquecidos com esses microrganismos e observaram a degradação do LAS. Outros trabalhos também apontaram o enriquecimento a partir da identificação de bactérias *Pseudomonas* em amostras contendo LAS, corroborando assim para a ideia de um potencial envolvimento desses microrganismos na degradação do surfactante (LIJUN *et al.*, 2005).

As *Selenomonas* é um gênero muito encontrado em microbiotas onde bactérias do gênero *Clostridium* são dominantes. Essas bactérias são relacionadas à degradação de monômeros, os convertendo a álcoois, ácidos orgânicos simples, dióxido de carbono e hidrogênio (FALKS, 2012; HENDRIKS; VAN LIEAR; KREUK, 2018).

#### 4.4 CONCLUSÕES

- A avaliação da concentração de LAS ao longo da batelada mostrou que ela pode variar devido aos processos de degradação, adsorção e dessorção que ocorrem no reator. Além disso, concluiu-se também que maior decaimento do LAS ocorreu ao final da batelada mostrando que foi necessário certo tempo para haver adaptação dos microrganismos ao surfactante.
- O maior valor de remoção de LAS por biodegradação observado foi de 75% para o tratamento com ferro sem adição do co-substrato. Isso provavelmente ocorreu devido a dupla funcionalidade do ferro de acceptor de elétrons e componente importante na composição enzimática e proteica das células bacterianas. Além disso, a adição do etanol como co-substrato não contribuiu para obtenção de maiores eficiências de degradação de LAS, provavelmente pela baixa concentração empregada.
- O experimento abiótico mostrou que a presença dos aceptores de elétrons influencia no processo de adsorção do LAS. Quanto maior a concentração do composto, maior a parcela de LAS que se adsorve à biomassa. Entre os três aceptores de elétrons avaliados, o ferro apresentou a maior influência. Isso provavelmente ocorreu devido sua característica catiônica, que se acumulando na biomassa cria uma superfície carregada positivamente e, por sua vez, atrai o LAS carregado negativamente no grupo sulfonado.
- Os gêneros de bactérias que se destacaram como potenciais envolvidos na degradação do LAS foram *Clostridium*, *Azospira*, *Eubacterium*, *Alkaliphilus* e *Bacillus*. Esses grupos foram identificados com elevados valores de abundância relativa. Os gêneros que se destacaram por serem identificados apenas na biomassa do tratamento controle, que recebeu basicamente macro e micronutrientes, etanol e LAS, foram *Cupriavidus*, *Ralstonia* e *Klebsiella*. Outros cinco gêneros foram identificados e que, apesar das menores abundâncias relativas pode, segundo a literatura, estar envolvidos na degradação do LAS. São eles: *Anaerobacillus*, *Comamonas*, *Lysinibacillus*, *Pseudomonas* e *Selenomonas*.

#### 4.5 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Identificar os metabólitos da degradação do LAS para avaliar até que nível ele está sendo degradado, avaliando também o potencial tóxico que esses produtos da sua degradação podem causar nos microrganismos anaeróbios.
- Realizar um estudo da influência da concentração da biomassa aplicada nos tratamentos para biodegradação de LAS, visando diminuir o impacto inibidor do surfactante nos microrganismos metanogênicos evitando que a eficiência da sua degradação diminua.
- Expandir a avaliação abiótica de adsorção de LAS à biomassa, avaliando diferentes concentrações do surfactante em diferentes condições do meio. Incluindo a variação de por exemplo, pH, temperatura, concentração de co-substrato, concentração de nutrientes para construção de isotermas de adsorção.
- Realizar estudo de atividade enzimática visando identificar os microrganismos e as enzimas envolvidas na degradação do LAS. Fechando assim uma avaliação geral do processo de degradação do LAS com: avaliar quanto de LAS entra e sai do sistema pelo balanço de massa, identificação dos metabólitos para avaliar até que nível ele é degradado e finalmente avaliação da biologia molecular identificando os microrganismos envolvidos na sua degradação e como eles a realizam pelo estudo das atividades enzimáticas.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O reator UASB na ETE-Mangueira se mostrou ineficiente na remoção do LAS. Isso provavelmente se deu pelo excesso do surfactante adsorvido na biomassa, que resulta no processo de dessorção e conseqüentemente há uma elevação das suas concentrações no efluente do reator. Em contrapartida a lagoa de polimento apresentou elevada remoção do surfactante por biodegradação, corroborando com a literatura que aponta elevados índices de remoção de LAS em ambientes aeróbios.

Apesar da não remoção do LAS observada no reator UASB em escala real avaliado, o experimento de bancada mostrou que o surfactante pode ser degradado em ambiente anaeróbio, assim como também indica a literatura para diversas configurações de reatores. Os três aceptores de elétrons avaliados influenciaram na remoção do LAS por biodegradação quando comparados aos tratamentos controles. Além disso, a avaliação da diversidade microbiana das biomassas após condicionadas nos experimentos indicou a presença de diversos grupos de microrganismos possivelmente envolvidos na degradação do LAS, independente do acceptor de elétrons aplicado. Outro fator importante foi a influência do nitrato, sulfato e ferro no processo de adsorção do LAS, aspecto esse também de importância na avaliação da remoção do surfactante em sistemas de tratamento.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, E. F. **Estudo da diversidade microbiana metanogênica em reatores UASB tratando esgoto sanitário**. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2007.
- ADEKANMBI, A. O.; USINOLA, I. M. Biodegradation of sodium dodecyl sulphate (SDS) by two bacteria isolated from wastewater generated by a detergent-manufacturing plant in Nigeria. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v. 10, n. 4, p. 251-255, 2017.
- AHN, Y. H. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: a review. **Process Biochemistry**, v. 41, n.8, p. 1709-1721, 2006.
- ALBORNOZ, L. L.; CENTURIÃO, T. C.; GIACOBBO, A.; ZOPPAS-FERREIRA, J.; BERNARDES, A. M. Influence of rain events on efficiency of a compact wastewater treatment plant: a case study on a university campus aiming water reuse for agriculture. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 41350-41360, 2020.
- ALMEIDA, J. L. **Biodegradabilidade do LAB/LAS – Mitos e realidades**. Disponível em: <<http://www.deten.com.br/>>. Acesso em: 14 de maio de 2021.
- ALMEIDA, J. L. G.; DUFAUX, M.; BEN TAARIT, Y.; NACCACHE, C. Linear alkylbenzene. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 71, p. 675-694, 1994.
- ALMENDARIZ, F. J.; MERÁZ, M.; SOBERÓN, G.; MONROY, O. Degradation of linear alkylbenzene sulphonate (LAS) in an acidogenic reactor bioaugmented with a *Pseudomonas aeruginosa* (M113) strain. **Water Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 183-188, 2001.
- ANDRADE, M. V. F.; DELFORNO, T. P.; SAKAMOTO, I. K.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. Dynamics and response of microbial diversity to nutritional conditions in denitrifying bioreactor for linear alkylbenzene sulfonate removal. **Journal of Environment Management**, v. 263, 2020.
- AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 152-161, 2005.
- APHA/AWWA/WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22<sup>a</sup> ed. Washington: American Public Health Association.
- ASOK, A. L.; JISHA, M. S. Biodegradation of the anionic surfactant linear alkylbenzene sulfonate (LAS) by autochthonous *Pseudomonas* sp. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 223, p. 5039-5048, 2012.
- ASOK, A. K.; JISHA, M. S. Molecular characterization of linear alkylbenzene sulphonate degrading *Pseudomonas nitroreducens* (MTCC 10463) and *P. aeruginosa* (MTCC 10462). **Indian Journal of Biotechnology**, v. 12, p. 514-522, 2013.

ASSUNÇÃO, F. A. L.; VON SPERLING, M. Influence of temperature and pH on nitrogen removal in a series of maturation ponds treating anaerobic effluent. **Water Science & Technology**, v. 67, n. 10, p. 2241-2248, 2013.

BACOSA, H. P.; SUTO, K.; INOUE, C.; Bacterial Community dynamics during the preferential degradation of aromatic hydrocarbons by a microbial consortium. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 74, p. 109-115, 2012.

BAE, H.-S.; RASH, B. A.; RAINEY, F. A.; NOBRE, M. F.; TIAGO, I.; DA COSTA, M. S.; MOE, W. M. Description of *Azospira restricta* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from groundwater. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, p. 1521-1526, 2007.

BARREIRO-VESCOVO, S.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C.; GODOS, I. Characterization of communities in a microalgae-bacteria system treating domestic wastewater reveals dominance of phototrophic and pigmented bacteria. **Algal Research**, v. 59, 2021.

BENNET, B. D.; GRALNICK, J. A. Mechanisms of toxicity by and resistance to ferrous iron in anaerobic systems. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 140, p. 167-171, 2019.

BERGEY, D. H.; HOLT, J. G. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Williams & Wilkins, 9<sup>a</sup> edition, 1994.

BONFIM, J. H.; SILVA, J. G.; GAVAZZA, S.; FLORÊNCIO, L.; KATO, M. T. Remoção de alquilbenzeno linear sulfonato em esgoto doméstico tratado em reator UASB e lagoa de polimento. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 21, n. 2, p. 397-406, 2016.

BOON, N.; GORIS, J.; DE VOS, P.; VERSTRAETE, W.; TOP, E. M. Bioaugmentation of activated sludge by an indigenous 3-chloroaniline-degrading *Comamonas testosteroni* strain, *l2gfp*. **Environmental Microbiology and Biodegradation**, v. 66, p. 2906-2913, 2000.

BOSHOFF, G.; DUNCAN, J.; ROSE, P. D. Tannery effluent as a carbon source for biological sulphate reduction. **Water Research**, v. 38, p. 2651-2658, 2004.

BRAGA, J. K.; MOTTERAN, F.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. Evaluation of bacterial community from anaerobic fluidized bed reactor for the removal of linear alkylbenzene sulfonate from laundry wastewater by 454-pyrosequence. **Ecological Engineering**, v. 82, p. 231-240, 2015.

BRODA, E. Two kinds of lithotrophs missing in nature. **Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie**, v. 17, p. 491-493, 1977.

CANTARERO, S.; ZAFRA-GÓMEZ, A.; BALLESTEROS, O.; NAVALÓN, A.; REIS, M. S.; SARAIVA, P. M.; VÍLCHEZ, J. L. Environmental monitoring study of linear alkylbenzene sulfonates and insoluble soap in Spanish sewage sludge samples. **Journal of environmental Science and Health Part A**, v. 46, p. 617-626, 2011.

CAPROSO, J. G.; LAUBER, C. L.; WALTERS, W. A.; *et al.* Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. **Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology**, v. 6, p. 1621-1624, 2012.

CAROSIA, M. F.; OKADA, D. Y.; SAKAMOTO, I. K.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. Microbial characterization and degradation of linear alkylbenzene sulfonate in an anaerobic reactor treating wastewater containing soap powder. **Bioresource Technology**, v. 167, p. 316-323, 2014.

CASTRO, I. M. P.; AZEVEDO, L. S.; SOUZA, C. L. Evaluation of microaeration strategies in the digestion zone of UASB reactors as an alternative for biogas desulfurization. **Environmental Technology**, 2021.

CAVALCANTE, W. A.; LEITÃO, R. C.; GEHRING, T. A.; ANGENENT, L. T.; SANTAELLA, S. T. Anaerobic formation for n-caproic acid production: a review. **Process Biochemistry**, v. 54, p. 106-119, 2017.

CAVALCANTI, P. F. F. **Integrated application of the UASB reactor and ponds for domestic sewage treatment in tropical regions**. Tese de Doutorado, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2003.

CONAMA, **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA**; “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, e dá outras providências”; publicada no Diário Oficial da União em 18/03/2005, Brasília/DF.

CHEN, L.; LIAO, B.; QI, H.; *et al.* Autophagy contributes to regulation of the hypoxia response during submergence in *Arabidopsis thaliana*. **Autophagy**, v. 11-12, p. 2233-2246, 2015.

CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4044-4064, 2008.

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Reatores anaeróbios**. 2ª ed. Belo Horizonte: UFMG/Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 5, 380 p., 2007.

CHERNICHARO, C. A. L. AQUINO, S. F.; VON SPERLING, M.; STEUTZ, R. M.; SANTOS, L. V.; MABUB, M. O. A.; MOREIRA, M. A.; VASCONCELOS, O. M. S. R.; GLÓRIA, R. M. Conceptual analysis of UASB/polishing pond system regarding the removal of surfactants, micropollutants and control of gaseous emissions. **Water Science & Technology**, v. 65, p. 1211-1219, 2010.

CHIEN, C. C. Arylsulfonates as sole source of sulfur for *Clostridium* DSM 12136. **Journal of Basic Microbiology**, v. 45, p. 274-278, 2005.

CHISTYAKOVA, N. I.; RUSAKOV, V. S.; SHAPKIN, A. A.; ZHILINA, T. N.; ZAVARZINA, D. G. Reduction of amorphous Fe (III)-hydroxide by binary microbial culture, a Mössbauer study. **Hyperfine Interact**, v. 197, p. 325-330, 2010.

CONAMA, **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA**; “Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA”; publicada no Diário Oficial da União, Brasília/DF.

DALTON, D. **Tensoativos**: química, propriedades e aplicações. São Paulo: Blucher, 2011.

DELFORNO, T. P.; OKADA, D. Y.; POLIZEL, J.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A. Microbial characterization and removal of anionic surfactant in an expanded granular sludge bed reactor. **Bioresource Technology**, v. 107, p. 103-109, 2012.

DEMIRER, G. N.; CHEN, S. Effect of retention time and organic loading rate on anaerobic acidification and biogasification of dairy manure. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 79, n. 12, p. 1381-1387, 2004.

DENGER, K.; KERTESZ, M. A.; VOCK, E. H.; SCHON, R.; MÄGLI, A.; COOK, A. M. Anaerobic desulfonation of 4-tolylsulfonate and 2-(4sulfophenyl) butyrate by a *Clostridium* sp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, p. 1526-1530, 1996.

DENGER, K.; WEINITSCHKE, S.; SMITS, T. H. M.; SCHLEHECK, D.; COOK, A. M. Bacterial sulfite dehydrogenase in organotrophic metabolism: separation and identification in *Cupriavidus necator* H16 and in *Delftia acidovorans* SPH-1. **Microbiology**, v. 154, p. 256-263, 2008.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from waste and renewable sources**: an introduction. 2ª ed. Weinheim: Wiley-Vch, 2011.

DUARTE, I. C. S.; DE FRANÇA, P.; OKADA, D. Y.; DO PRADO, P. F.; VARESCHE, M. B. A. Anaerobic degradation of anionic surfactants by indigenous microorganisms from sediments of a tropical polluted river in Brazil. **Revista de Biología Tropical**, v. 63, n. 1, p. 395-402, 2015.

DUARTE, I. C. S.; OLIVEIRA, L. L.; OKADA, D. Y.; DO PRADO, P. F.; VARESCHE, M. B. A. Evaluation of the microbial diversity in sequencing batch reactor treating linear alkylbenzene sulfonate under denitrifying and mesophilic conditions using swine sludge as inoculum. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 58, n. 3, p. 326-332, 2015.

DUARTE, I. C. S.; OLIVEIRA, L. L.; SAAVEDRA, N. K.; FANTINATTI-GARBOGGINI, F.; MENEZES, C. B. A.; OLIVEIRA, V. M.; VARESCHE, M. B. A. Treatment of linear alkylbenzene sulfonate in a horizontal anaerobic immobilized biomass reactor. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 606-612, 2010.

DUARTE, I. C. S.; OLIVEIRA, L. L.; SAAVEDRA, N. K.; FANTINATTI-GARBOGGINI, F.; OLIVEIRA, V. M.; VARESCHE, M. B. A. Evaluation of the microbial diversity in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor treating linear alkylbenzene sulfonate. **Biodegradation**, v. 19, p. 375-385, 2008.

ELSGAARD, L. Toxicity of xenobiotics during sulfate, iron and nitrate reduction in primary sewage sludge suspensions. **Chemosphere**, v. 79, p. 1003-1009, 2010.

ELSGAARD, L.; PETERSON, S. O.; DEBOSZ, K. Effects and risk assessment of linear alkylbenzene sulfonates in agricultural soil: Short-term effects on soil microbiology. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, n. 8, p. 1656-1663, 2001.

FACCENDA, H. B.; MELARA, F.; DAMINI, G.; GODINHO, M.; MANERA, C.; PICCIN, J. S. Graywater treatment of emerging pollutant linear alkylbenzene sulfonate by adsorption with leather shave waste activated carbon. **Environmental Science and Pollution Research**, 2021.

FALK, H. M. **Monitoring the anaerobic digestion process**. Tese (PhD em Engenharia Bioquímica) – School of Engineering and Science, Jacobs University Bremen, 2012.

FELIPE, L. O.; DIAS, S. C. Surfactantes sintéticos e biossurfactantes: vantagens e desvantagens. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 3, p. 228-236, 2017.

FIELD, J. A.; LETTINGA, G.; GEURTS, M. The methanogenic toxicity and anaerobic degradability of potato starch wastewater phenolic amino acids. **Biological Wastes**, v. 21, p. 37-54, 1987.

FLORÊNCIO, L.; JENICEK, P.; FIELD, J. A.; LETTINGA, G. Effects of cobalt on the anaerobic degradation of methanol. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 75, n. 5, p. 368-374, 1993.

FORZANEH, H.; FERREIDON, M.; NOOR, A.; NASER, G. Biodegradation of dodecylbenzene sulfonate sodium by *Stenotrophomonas maltophilia* biofilm. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 55-62, 2010.

GARCIA, M. T.; CAMPOS, E.; RIBOSA, I.; LATORRE, A.; SÁNCHEZ-LEAL, J. Anaerobic digestion of linear alkyl benzene sulfonates: Biodegradation kinetics and metabolite analysis. **Chemosphere**, v. 60, p. 1636-1643, 2005.

GARCÍA-LUQUE, E.; GONZÁLEZ-MAZO, E.; LARA-MARTÍN, P.; FORJA, J. M.; GÓMEZ-PARRA, A. Aerobic biodegradation of linear alkylbenzene sulfonates and sulfophenylcarboxylic acids for different salinity values by means of continuous assays. **Environmental Monitoring Assess**, v. 162, p. 417-425, 2010.

GAVALA, H. N.; AHRING, B. K. Inhibition of the anaerobic digestion process by linear alkylbenzene sulfoantes. **Biodegradation**, v. 13, p. 201-209, 2002.

GOYAL, A. K.; ZYLSTRA, G. J. Molecular cloning of novel genes for polycyclic aromatic hydrocarbon degradation from *Comamonas testosteroni* GZ39. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 1, p. 230-236, 1996.

GUARINO, F.; MOTTA, O.; TURANO, M.; PROTO, A.; VIGLIOTTA, G. Preferential use of the perchlorate over the nitrate in the respiratory processes mediated by the bacterium *Azospira* sp. OGA24. **Water**, v. 12, 2020.

GUMAELIUS, L.; MAGNUSSON, G.; PETTERSSON, B.; DALHAMMAR, G. *Comamonas denitrificans* sp. nov., an efficient denitrifying bacterium isolated from activated sludge. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p. 999-1006, 2001.

GUSTAVSSON, J.; SVENSSON, B.; KARLSSON, A.; The feasibility of trace element supplementation for stable operation of wheat stillage fed biogas tank reactors. **Water Science and Technology**, v. 64, p. 320-325, 2011.

HENDRIKS, A. T. W. M.; VAN LIER, J. B.; KREUK, M. K. Growth media in anaerobic fermentative processes: The underestimated potential of thermophilic fermentation and anaerobic digestion. **Biotechnology Advances**, v. 36, 2018.

HERA, Human and Environmental Risk Assessment on ingredients of Household Cleaning Products: **LAS – Linear Alkylbenzene Sulphonate**. 2013. Disponível em: <<https://www.heraproject.com/files/HERA-LAS%20revised%20April%202013%20Final1.pdf>>. Acesso em: 02 de janeiro de 2022.

HERNANDEZ-EUGENIO, G.; FARDEAU, M.-L.; CAYOL, J.-L.; PATEL, B. K. C.; THOMAS, P.; MACARIE, H.; GARCIA, J.-L.; OLLIVIER, B. *Sporanaerobacter acetigenus* gen. nov., sp. nov., a novel acetogenic, facultatively sulfur-reducing bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, p. 1217-1223, 2002.

HIDAYAT, N. Optimization of pH, temperature and agitation rate on biodegradation of lipids and detergents in food wastewater by *Bacillus sp* N-09. **Journal of Agriculture and Food Technology**, v. 1, n. 5, p. 59-62, 2011.

HU, Q.; HAN, X.; ZHOU, X.; DING, S.; DING, C.; YU, S. Characterization of biofilm formation by *Riemerella anatipestifer*. **Veterinary Microbiology**, v. 144, p. 429-436, 2010.

HUANG, Y.; LATORRE, A.; BARCELÓ, D.; GARCÍA, J.; AGUIRRE, P.; MUJERIEGO, R.; BAYONA, J. M. Factors affecting linear alkylbenzene sulfonates removal in subsurface flow constructed wetlands. **Environmental Science and Technology**, v. 38, p. 2657-2663, 2004.

IMACHI, H.; SAKAI, S.; SEKIGUCHI, Y.; HANADA, S.; KAMAGATA, Y.; OHASHI, A.; HARADA, H. *Methanolinea tarda* gen. nov., sp. nov., a methane-producing archaeon isolated from methanogenic digester sludge. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, p. 294-301, 2008.

IVANKOVIC, T.; HRENOVIC, J. Surfactants in the environment. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, v. 61, p. 95-110, 2010.

IZA, Z.; GRUSENMEYER, S.; VERSTRAETE, W. Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: Technical Aspects. **Applied and Environmental Technology**, v. 51, n. 3, p. 572-579, 1986.

JANSSEN, D. B.; DINKLA, I. J. T.; POELARENDS, G. J.; TERPSTRA, P. Bacterial degradation of xenobiotic compounds: evolution and distribution of novel enzyme activities. **Environmental Microbiology**, v. 7, n. 12, p. 1868-1882, 2005.

JAYACHANDRAN, G.; GÖRISCH, H.; ADRIAN, L. Dehalorespiration with hexachlorobenzene and pentachlorobenzene by *Dehalococcoides* sp. strain CBDB1. **Archives of Microbiology**, v. 180, p. 411-416, 2003.

JING, Z.; HU, Y.; NIU, Q.; LIU, Y.; LI, Y.-Y.; WANG, X. C. UASB performance and electron competition between methane-producing archaea and sulfate-reducing bacteria in treating sulfate-rich wastewater containing ethanol and acetate. **Bioresource Technology**, v. 137, p. 349-357, 2013.

KHANAL, S. K. **Anaerobic Biotechnology Production**. Cingapura: Wiley-Blackwell, 2009.

KHLEIFAT, K. M.; TARAWNEH, K. A.; WEDYAN, M. A.; AL-TARAWNEH, A. A.; SHARAF, K. A. Growth kinetics and toxicity of *Enterobacter cloacae* grown on linear alkylbenzene sulfonate as sole carbon source. **Current Microbiology**, v. 57, p. 364-370, 2008.

KOENDJBLHARLE, J. G.; WLEERSMA, K.; KRANENBURG, R. V. Investigating the central metabolism of *Clostridium thermosuccinogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, 2018.

KOSCHORRECK, M. Microbial sulphate reduction at a low pH. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 64, p. 329-342, 2008.

KRAYZELOVA, L.; BARTACEK, J.; KOLESAROVA, N.; JENICEK, P. Microaeration for hydrogen sulfide removal in UASB reactor. **Bioresource Technology**, v. 172, p. 297-302, 2014.

KRISTIANSEN, I. B.; JONGE, H.; NORBERG, P.; MATHER-CHRISTENSEN, O.; ELSGAARD, L. Sorption of linear alkylbenzene sulfonate to soil components and effects on microbial iron reduction. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 6, p. 1221-1228, 2003.

LARA-MARTÍN, P. A.; GÓMEZ-PARRA, A.; KÖCHLING, T.; SANZ, J. L.; AMILS, R.; GONZÁLEZ-MAZO, E. Anaerobic degradation of linear alkylbenzene sulfonates in coastal marine sediments. **Environmental Science and Technology**, v. 41, p. 3573-3579, 2007.

LARA-MARTÍN, P. A.; GÓMEZ-PARRA, A.; SANZ, J. L.; GONZÁLEZ-MAZO, E. Anaerobic degradation pathway of linear alkylbenzene sulfonates (LAS) in sulfate-reducing marine sediments. **Environmental Science and Technology**, v. 44, p. 1670-1676, 2010.

LEÓN, V. M.; LÓPEZ, C.; LARA-MARTÍN, P. A.; PRATS, D.; VARÓ, P.; GONZÁLEZ-MAZO, E.; Removal of linear alkylbenzene sulfonates and their degradation intermediates at low temperatures during activated sludge treatment. **Chemosphere**, v. 64, p. 1157-1166, 2006.

LEW, B.; LUSTIG, I.; BELIAVSKI, M.; TARRE, S.; GREEN, M. An integrated UASB-sludge digester system for raw domestic wastewater treatment in temperature climates. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 4921-4924, 2011.

LI, H.; DING, S.; SONG, W.; ZHANG, Y.; DING, J.; LU, J. Iron reduction characteristics and kinetic analysis of *Comamonas testosteroni* Y1: a potential iron-reduction bacteria. **Biochemical Engineering Journal**, v. 177, 2022.

LIJUN, X.; BOCHU, W.; ZHIMIN, L.; CHUANREN, D.; QINGHONG, W.; LIU, L. Linear alkyl benzene sulphonate (LAS) degradation by immobilized *Pseudomonas aeruginosa* under low intensity ultrasound. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 40, p. 25-29, 2005.

LIWARSKA-BIZUKOJC, E.; BIZUKOJC, M. Effect of selected anionic surfactants on activated sludge flocs. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, p. 660-668, 2006.

LOBNER, T.; TÖRANG, L.; BATSTONE, D. J.; SCHMIDT, J. E.; ANGELIDAKI, I. Effects of process stability on anaerobic biodegradation of LAS in UASB reactors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 89, p. 759-765, 2005.

MACEDO, T. Z.; OKADA, D. Y.; DELFORNO, T. P.; BRAGA, J.K.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. The comparative advantages of ethanol and sucrose as co-substrate in the degradation of an anionic surfactant: microbial community selection. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, p. 1835-1844, 2015.

MACHICHI, T.; LABAT, M.; WOO, T. H. S.; THOMAS, P.; GARCIA, J.-L.; PATEL, B. K. *C. Eubacterium aggregans* sp. nov., a new homoacetogenic bacterium from olive mill wastewater treatment digester. **Anaerobe**, v. 4, p. 283-291, 1998.

MADEIRA, C. L.; MENEZES, O.; PARK, D.; JOG, K. V.; HATT, J. K.; GAVAZZA, S.; KRZMARZICK, M. J.; SIERRA-ALVAREZ, R.; SPAIN, J. C.; KONSTANTINIDIS, K. T.; FIELD, J. A. Bacteria make a living breathing the nitroheterocyclic insensitive munitions compound 3-nitro-1,2,4-triazol-5-one (NTO). **Environmental Science and Technology**, v. 55, p. 5806-5814, 2021.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARCK, D. P. **Microbiologia de Brock**. 12<sup>a</sup> edição. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1160 p.

MAINTINGUER, S. I.; FERNANDES, B. S.; DUARTE, I. C. S.; SAAVEDRA, N. K.; ADORNO, M. A. T.; VARESCHE, M. B. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, p. 4309-4317, 2008.

MARINHO, I. C. Otimização dos fatores que influenciam a biodegradação e adsorção do alquilbenzeno linear sulfonado no tratamento anaeróbio. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2015.

MARTÍNEZ-PASCUAL, E.; GROTENHUIS, T.; SOLANAS, A. M.; VIÑAS, M. Coupling chemical oxidation and biostimulation: Effects on the natural attenuation capacity and resilience of the native microbial community in alkylbenzene-polluted soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 300, p. 135-143, 2015.

MENEZES, O.; MELO, N.; PARAISO, M.; FREITAS, D.; FLORENCIO, L.; KATO, M. T.; GAVAZZA, S. The key role of oxygen in the removal of 2,4-diaminoanisole (DAAN), the biotransformation product of the intensive munitions compound 2,4-dinitroanisole (DNAN), over other electron acceptors. **Chemosphere**, v. 267, 2021.

METCALF; EDDY. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. Tradução de Ivanildo Hespanhol e José Carlos Mierzwa. 5ª ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

MIZUNO, O.; LI, Y. Y.; NOIKE, T. The behavior of sulfate-reducing bacteria in acidogenic phase of anaerobic digestion. **Water Research**, v. 32, n. 5, p. 1626-1634, 1998.

MOGENSEN, A. S.; AHRING, B. K. Formation of metabolites during biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate in an upflow anaerobic sludge bed reactor under thermophilic conditions. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 77, n. 5, p. 483-488, 2002.

MÖSCHE, M.; MEYER, U. Toxicity of linear alkylbenzene sulfonate in anaerobic digestion: influence of exposure time. **Water Research**, v. 36, p. 3253-3260, 2002.

MOTTERAN, F.; NADAI, B. M.; BRAGA, J. K.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. Metabolic routes involved in the removal of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) employing linear alcohol ethoxylated and ethanol as co-substrates in enlarged scale fluidized bed reactor. **Science of the Total Environment**, v. 640-641, p. 1411-1423, 2018.

MOTTERAN, F.; OKADA, D. Y.; DELFORNO, D. P.; VARESCHE, M. B. A. Influence of cosubstrates for linear anionic sulfonated alkylbenzene degradation and methane production in anaerobic batch reactors. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 139, p. 60-68, 2020.

MUNGRAY, A. K.; KUMAR, P. Anionic surfactants in treated sewage and sludges: Risk assessment to aquatic and terrestrial environments. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 2919-2929, 2008.

NAGPAL, S.; CHUICHULCHERM, S.; LIVINGSTON, A.; PEEVA, L. Ethanol utilization by sulfate-reducing bacteria: An experimental and modeling study. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 70, p. 533-543, 2000.

NEWMAN, D. K.; KOLTER, R. A role for excreted quinones in extracellular electron transfer. **Nature**, v. 405, p. 94-97, 2000.

OKADA, D. Y.; DELFORNO, T. P.; ESTEVES, A. S.; SAKAMOTO, I. K.; DUARTE, I. C. S.; VARESCHE, M. B. A. Optimization of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) degradation in UASB reactors by varying bioavailability of LAS, hydraulic retention time and specific organic load. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 125-133, 2013.

OKADA, D. Y.; ESTEVES, A. S.; DELFORNO, T. P.; HIRASAWA, J. S.; DUARTE, I. C. S.; VARESCHE, M. B. A. Influence of co-substrates in the anaerobic degradation of an anionic surfactant. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 3, p. 499-506, 2013.

- OLIVEIRA, L. L.; COSTA, R. B.; SAKAMOTO, I. K.; DUARTE, I. C. S.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. LAS degradation in a fluidized bed reactor and phylogenetic characterization of the biofilm. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 3, p. 521-529, 2013.
- OLIVEIRA, L. L.; COSTA, R. B.; OKADA, D. Y.; VICH, D. V.; DUARTE, I. C. S.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. Anaerobic degradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in fluidized bed reactor by microbial consortia in different support materials. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 5112-5122, 2010.
- OLIVER-RODRÍGUEZ, B.; ZAFRA-GÓMES, A.; REIS, M. S.; DUARTE, B. P. M.; VERGE, C.; DE FERRER, J. A.; PÉREZ-PASCUAL, M.; VÍLCHEZ, J. L. Wide-range and accurate modeling of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) adsorption/desorption on agricultural soil. **Chemosphere**, v. 138, p. 148-155, 2015.
- OLLINGER, J.; SONG, K.-B.; ANTELMANN, H.; HECKER, M.; HELMANN, J. D. Role of the fur regulon in iron transport in *Bacillus subtilis*. **Journal of Bacteriology**, v. 188, n. 10, p. 3664-3673, 2006.
- ORON, G.; ADEL, M.; AGMON, V.; FRIEDLER, E.; HALPERIN, R.; LESHEM, E.; WEINBERG, D. Greywater use in Israel and worldwide: Standards and prospects. **Water Research**, v. 58, p. 92-101, 2014.
- OU, Z.; YEDILER, A.; HE, Y.; JIA, L.; KETTRUP, A.; SUN, T. Adsorption of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) on soils. **Chemosphere**, v. 32, n. 5, p. 827-839, 1996.
- PENTEADO, J. C. P.; SEOUD, O. A. E.; CARVALHO, L. R. F. Alquilbenzeno sulfonato linear: Uma abordagem ambiental e analítica. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 1038-1046, 2006.
- PÉREZ, V. M.; FERNÁNDEZ, J. M. M.; FERNÁNDEZ, F. O.; BALSERA, J. V. Gross solids content prediction in urban WWTPs using SVM. **Water**, v. 13, n. 4, 2021.
- PICOT, B.; ANDRIANARISON, T.; OLIJNYK, D. P.; WANG, X.; QIU, J. P.; BRISSAUD, F. Nitrogen removal in wastewater stabilization ponds. **Desalination and Water Treatment**, v. 4, p. 103-110, 2009.
- PISHGAR, R.; MORIN, D.; YOUNG, S. J.; SCWARTZ, J.; CHU, A. Characterization of domestic wastewater released from “green” households and field study of the performance of onsite septic tanks retrofitted into aerobic bioreactors in cold climate. **Science of Total Environment**, v. 755, 2021.
- POKORNA-KRAYZELOVA, L.; MAMPAEY, K. E.; VANNECKE, T. P. W.; BARTACEK, J.; JENICEK, P.; VOLCKE, E. I. P. Model-based optimization of microaeration for biogas desulfurization in UASB reactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 125, p. 171-179, 2017.
- POLLOCK, J.; WEBER, K. A.; LACK, J.; ACHENBACH, L. A.; MORMILE, M. R.; COATES, J. D. Alkaline iron (III) reduction by a novel alkaliphilic, halotolerant, *Bacillus* sp. isolated from flat sediments of soap lake. **Applied Microbial and Cell Physiology**, v. 77, p. 927-934, 2007.

POSTEC, A.; QUÉMÉNEUR, M.; LECOEVRE, A.; CHABERT, N.; JOSEPH, M.; ERAUSO, G. *Alkaliphilus serpentinus* sp. nov. and *Alkaliphilus pronyensis* sp. nov., two novel anaerobic alkaliphilic species isolated from serpentinite-hosted prony bay hydrothermal field (New Caledonia). **Systematic and Applied Microbiology**, v. 44, 2021.

QUAST, C.; PRUESSE, E.; YILMAZ, P.; GERKEN, J.; SCHWEER, T.; YARZA, P.; PEPLIES, J.; GLÖCKNER, F. O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, v. 41, p. 590-596, 2012.

RAVI, P. P.; LINDNER, J.; OECHSNER, H.; LEMMER, A. Effects of target pH-value on organic acids and methane production in two-stage anaerobic digestion of vegetable waste. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 96-102, 2018.

RENAUD, F.; OBERHÄNSLI, F.; TEYSSIE, J. L.; MIRAMAND, P.; TEMARA, A.; WARNAU, M. Sorption-desorption kinetics and toxic cell concentration in marine phytoplankton microalgae exposed to linear alkylbenzene sulphonate. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 5, p. 942-947, 2011.

RHAN, Z.-L.; ZHU, J.; ZHOU, L.; JI, R.-W. Study on degradation kinetics of co-metabolic biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate strains. **International Forum on Energy, Environmental and Sustainable Development**, p. 1071-1074, 2016.

RICE, K. C.; BAYLES, K. W. Molecular control of bacterial death and lysis. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 72, n. 1, p. 85-109, 2008.

ROY, R.; CONRAD, R. Effect of methanogenic precursors (acetate, hydrogen, propionate) on the suppression of methane production by nitrate in anoxic rice field soils. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 28, n. 1, p. 49-61, 1999.

SAKAI, S.; EHARA, M.; TSENG, I.; YAMAGUCHI, T.; BRÄUER, S. L.; CADILLO-QUIROZ, H.; ZINDER, S. H.; IMACHI, H. *Methanolinea mesophile* sp. nov., a hydrogenotrophic methanogen isolated from rice field soil, and proposal of the archaeal family *Methanoregulaceae* fam. nov., within the order *Methanomicrobiales*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 62, p. 1389-1395, 2012.

SALMINEN, J. M.; PETÄJÄJÄRVI, S. J.; TUOMINEN, S. M.; NYSTÉN, T. H. Ethanol-based *in situ* bioremediation of acidified, nitrate-contaminated groundwater. **Water Research**, v. 63, p. 306-315, 2014.

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

SATO, N.; OKUBO, T.; ONEDARA, T.; OHASHI, A.; HARADA, H. Prospects for a self-sustainable sewage treatment system: A case study on full-scale UASB system in India's Yamuna River Basin. **Journal of Environmental Management**, v. 80, p. 198-207, 2006.

SCHEEREN, M. B.; KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R.; DRESSLER, V. L. O processo ANAMMOX como alternativa para tratamento de águas residuárias, contendo alta concentração de nitrogênio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 12, p. 1289-1297, 2011.

SESHADRI, R.; ADRIAN, L.; FOUTS, D. E. et al. Genome sequence of the PCE-dechlorinating bacterium *Dehalococcoides ethanogens*. **Science**, v. 307, n. 5706, p. 105-108, 2005.

SHAIKH, I. N.; AHAMMED, M. M. Quantity and quality characteristics of greywater: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 261, p. 1-15, 2020.

SHENG, K.; CHEN, X.; PAN, J.; KLOSS, R.; WEI, Y.; YING, Y. Effect of ammonia and nitrate on biogas production from food waste via anaerobic digestion. **Biosystems Engineering**, v. 116, p. 205-212, 2013.

SHEN, Z.; ZHOU, Y.; WANG, J. Comparison of denitrification performance and microbial diversity using starch/polylactic blends and ethanol as electron donor for nitrate removal. **Bioresource Technology**, v.131, p. 33-39, 2013.

SILVA, L. G.; GAVAZZA, S.; FLORÊNCIO, L.; KATO, M. T. Quantificação de alquilbenzeno linear sulfonato em estação de tratamento de esgoto de efluentes e rios por cromatografia líquida de alta eficiência e extração em fase sólida. **Química Nova**, v. 40, n. 3, p. 334-341, 2017.

SILVA, L. G.; SILVA, D. C.; OLIVEIRA, L. M.; FLORÊNCIO, L.; GAVAZZA, S.; KATO, M. T. Degradação dos homólogos do alquilbenzeno linear sulfonato em lodo anaeróbio disperso. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 22, n. 2, p. 391-401, 2017.

SILVA, S. A. **Manual de análises físico-químicas de águas de abastecimento e residuárias**. Campina Grande-PB: O Autor, 2001.

SOBERÓN-CHÁVEZ, G.; CAMPOS, J.; HAÏDOUR, J.; RAMOS, J. L.; ORTIGOZA, J. Selection and preliminary characterization of a *Pseudomonas aeruginosa* strain mineralizing selected isomers in a branched-chain dodecylbenzenesulphonate mixture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 12, 1996.

SOUSA, T. A. T.; LOPES, W. S.; HENRIQUE, I. N.; LEITE, V. D.; SOUSA, J. T. Post-treatment of municipal sewer in shallow polishing ponds. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 11, p. 508-516, 2017.

SOUZA, L. F. C. **Avaliação da degradação de alquilbenzeno linear sulfonado (LAS) em reatores anaeróbios em escala de bancada**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco, 2009.

SOUZA, L. F. C.; FLORÊNCIO, L.; GAVAZZA, S.; KATO, M. T. Methanogenic activity inhibition by increasing the linear alkylbenzene sulfonate (LAS) concentration. **Journal of Environmental Science and Health Part A**, 2016.

TIEDJE, J. M. **Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium**. In: ZHENDER, A. J. B. (ed.). *Biology of Anaerobic Microorganisms*. New York: John Wiley and sons, 1988.

TOFALOS, A. E.; DAGHIO, M.; GONZÁLES, M.; PAPACCHINI, M.; FRANZETTI, A.; SEEGER, M. Toluene degradation by *Cupriavidus metallidurans* CH34 in nitrate-reducing conditions and in bioelectrochemical systems. **FEMS Microbiology Letters**, v. 365, 2018.

UEMATSU, H.; HOSHINO, E. Degradation of arginine and other amino acids by *Eubacterium nodatum* ATCC 33099. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v. 9, p. 305-311, 1996.

UNIÃO EUROPEIA. **Working Document on sludge**. Third Draft, 2000.

USEPA, Environmental Protection Agency: **Occurrence of contaminants of emerging concern in water from nine publicly owned treatment works**. Washington, EUA, 2009. Disponível em: < <https://www.epa.gov/sites/default/files/2018-11/documents/occurrence-cec-wastewater-9-treatment-work.pdf>>. Acesso em: 03 de janeiro de 2022.

VAN DER MEER, J. R.; DE VOS, W. M.; HARAYAMA, S.; ZEHNDER, A. J. B. Molecular mechanisms of genetic adaptation to xenobiotic compounds. **Microbiological Reviews**, v. 56, n. 4, p. 677-694, 1992.

VERGE, C.; MORENO, A.; BRAVO, J.; BERNA, J. L. Influence of water hardness on the bioavailability and toxicity of linear alkylbenzene sulphonate (LAS). **Chemosphere**, v. 60, p. 1636-1643, 2001.

VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C. A. L. **Biological wastewater treatment in warm climate countries** (vol. 1). Londres: IWA Publishing, 2005.

WANG, Y.; QIAN, P.-Y. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. **Plos One**, v. 4, n. 10, 2009.

WANLI, Z.; ZHANG, L.; LI, A. Enhanced anaerobic digestion of food waste by trace metals elements supplementation and reduced metals dosage by green chelating agent [S, S]-EDDS via improving metals bioavailability. **Water Research**, v. 84, p. 266-277, 2015.

WEI, J.; HAO, X.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; LI, J. Feasibility analysis of anaerobic digestion of excess sludge enhanced by iron: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 89, p. 16-26, 2018.

WILLEMS, A.; DE VOS, P. **Comamonas**. In: DWORKIN, M.; FALKOW, S.; ROSEMBERG, E.; SCHLEIFER, K. H.; STACKEBRANDT, E. (ed.). *The prokaryotes*. Springer, New York, 2006.

WILLETS, A. J.; CAIN, R. B. Microbial metabolism of alkylbenzene sulphonates: Enzyme system of *Bacillus* species responsible for  $\beta$ -oxidation of the alkyl side chain of alkylbenzene sulphonates. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 38, p. 543-555, 1972.

WU, C.-Y.; ZHUANG, L.; ZHOU, S.-G.; LI, F.-B.; LI, X.-M. Fe (III)-enhanced anaerobic transformation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by an iron-reducing bacterium *Comamonas koreensis* CY01. **Microbial Ecology**, v. 71, p. 106-113, 2010.

WU, L.; YANG, Y.; GUO, W.; HUANG, W.; PENG, Z.; ZHANG, Z.; ZOU, M.; LUO, J. Deterioration of biological pollutants removal induced by linear alkylbenzene sulphonates in sequencing batch reactors: Insight of sludge characteristics, microbial community and metabolic activity. **Bioresource Technology**, v. 315, 2020.

WU, X.-Y.; SHI, K.-L.; XU, X.-W.; WU, M.; OREN, A.; ZHU, X.-F. *Alkaliphilus halophilus* sp. nov., a strictly anaerobic and halophilic bacterium isolated from a saline lake, and emended description of the genus *Alkaliphilus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, p. 2898-2902, 2010.

YANG, L.; HUANG, Y.; ZHAO, M.; HUANG, Z.; MIAO, H.; XU, Z.; RUAN, W. Enhancing biogas generation performance from food wastes by high-solids thermophilic anaerobic digestion: Effect of pH adjustment. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 105, p. 153-159, 2015.

YENIGÜNG, O.; DEMIREL, B.; Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. **Process Biochemistry**, v.48, p. 901-911, 2013.

YING, G. G. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. **Environmental International**, v. 32, p. 417-431, 2006.

ZAKHARYUK, A.; KOZYREVA, L.; ARISKINA, E.; TROSHINA, O.; KOPITSYN, D.; SCHERBAKOVA, V. *Alkaliphilus namsaraevii* sp. nov., an alkaliphilic iron- and sulfur-reducing bacterium isolated from a steppe soda lake. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 67, p. 1990-1995, 2017.

ZAVARZINA, D. G.; TOUROVA, T. V.; KOLGANOVA, T. V.; BOULYGINA, E. S.; ZHILINA, T. N. Description of *Anaerobacillus alkalilacustre* gen. nov., sp. nov.— Strictly Anaerobic Diazotrophic Bacillus Isolated from Soda Lake and Transfer of *Bacillus arseniciselenatis*, *Bacillus macyae*, and *Bacillus alkalidiazotrophicus* to *Anaerobacillus* as the New Combinations *A. arseniciselenatis* comb. nov., *A. macyae* comb. nov., and *A. alkalidiazotrophicus* comb. nov. **Microbiology**, v. 78, n. 6, p. 723-731, 2009.

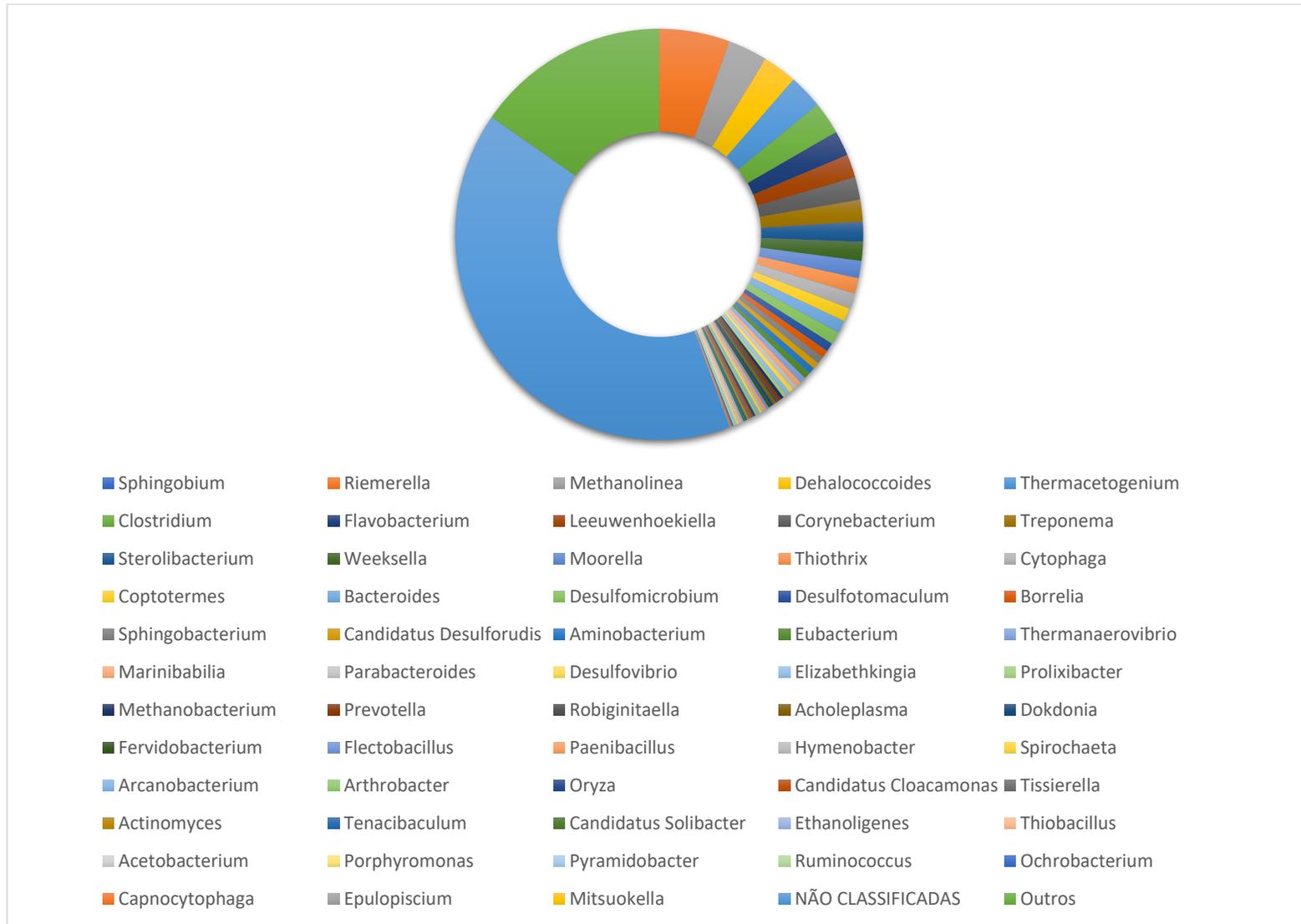
ZHANG, B.; ZHANG, L.-L.; ZHANG, S.-C.; SHI, H.-Z.; CAI, W.-M. The influence of pH on hydrolysis and acidogenesis of kitchen wastes in two-phase anaerobic digestion. **Environmental Technology**, v. 26, p. 329-339, 2005.

ZHANG, L.; VRIEZA, J. D.; HENDRICKX, T. L. G.; WEI, W.; TEMMINK, H.; RIJNAARTS, H.; ZEEMAN, G. Anaerobic treatment of raw domestic wastewater in a UASB-digester at 10°C and microbial community dynamics. **Chemical Engineering Journal**, v. 334, p. 2088-2097, 2018.

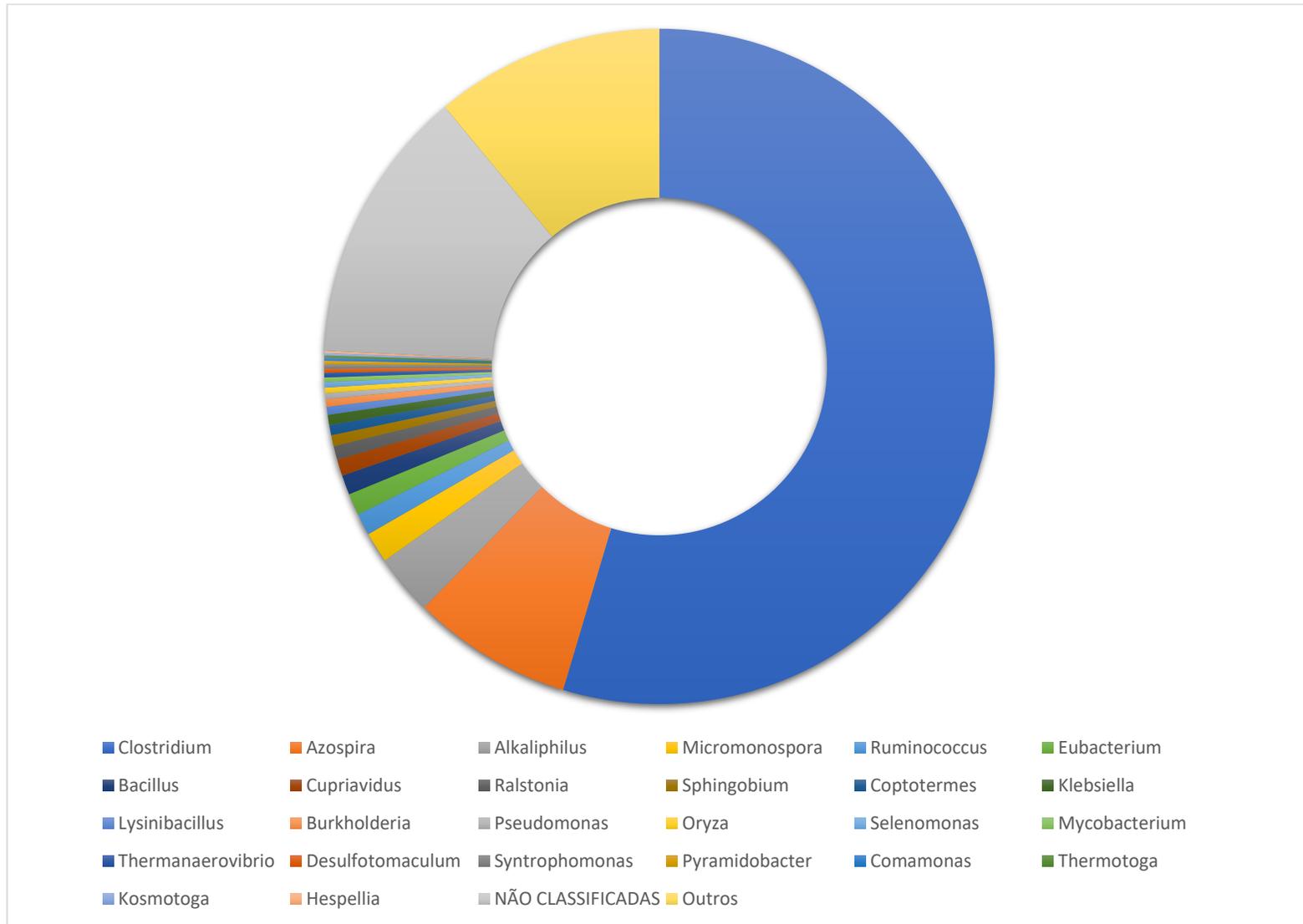
ZHANG, Z.; ZHANG, Y.; CHENG, Y.; JIN, R. Linear anionic surfactant (SDBS) destabilized anammox process through sludge disaggregation and metabolic inhibition. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, 2021.

ZHILINA, T. N.; ZAVARZINA, D. G.; KOLGANOVA, T. V.; LYSENKO, A. M.;  
TOUROVA, T. P. *Alkaliphilus peptidofertans* sp. nov., a new alkaliphilic bacterial soda  
lake isolate capable of peptide fermentation and Fe (III) reduction. **Microbiology**, v. 78, p.  
445-454, 2009.

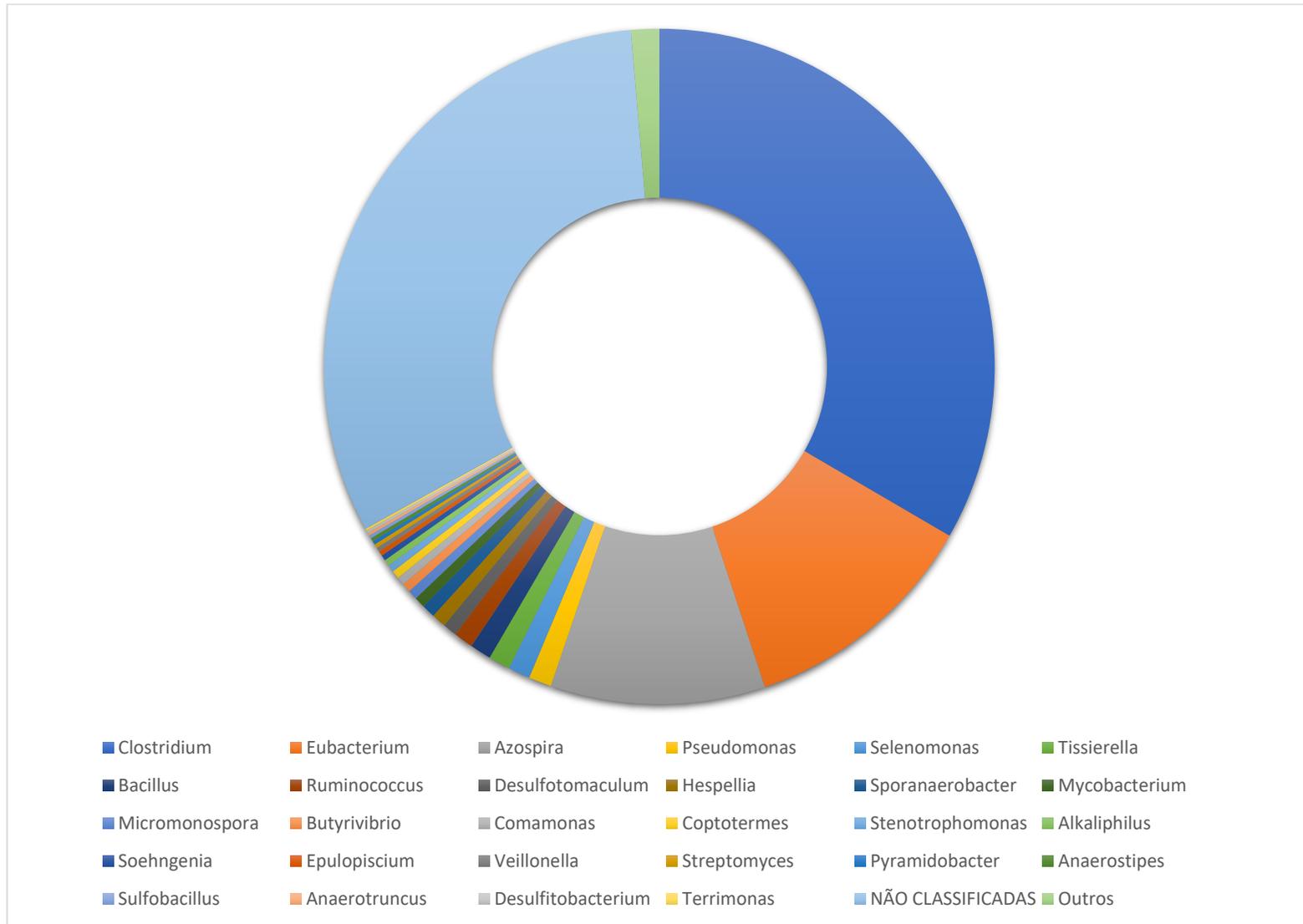
## APÊNDICE A – DIVERSIDADE MICROBIANA NO INÓCULO



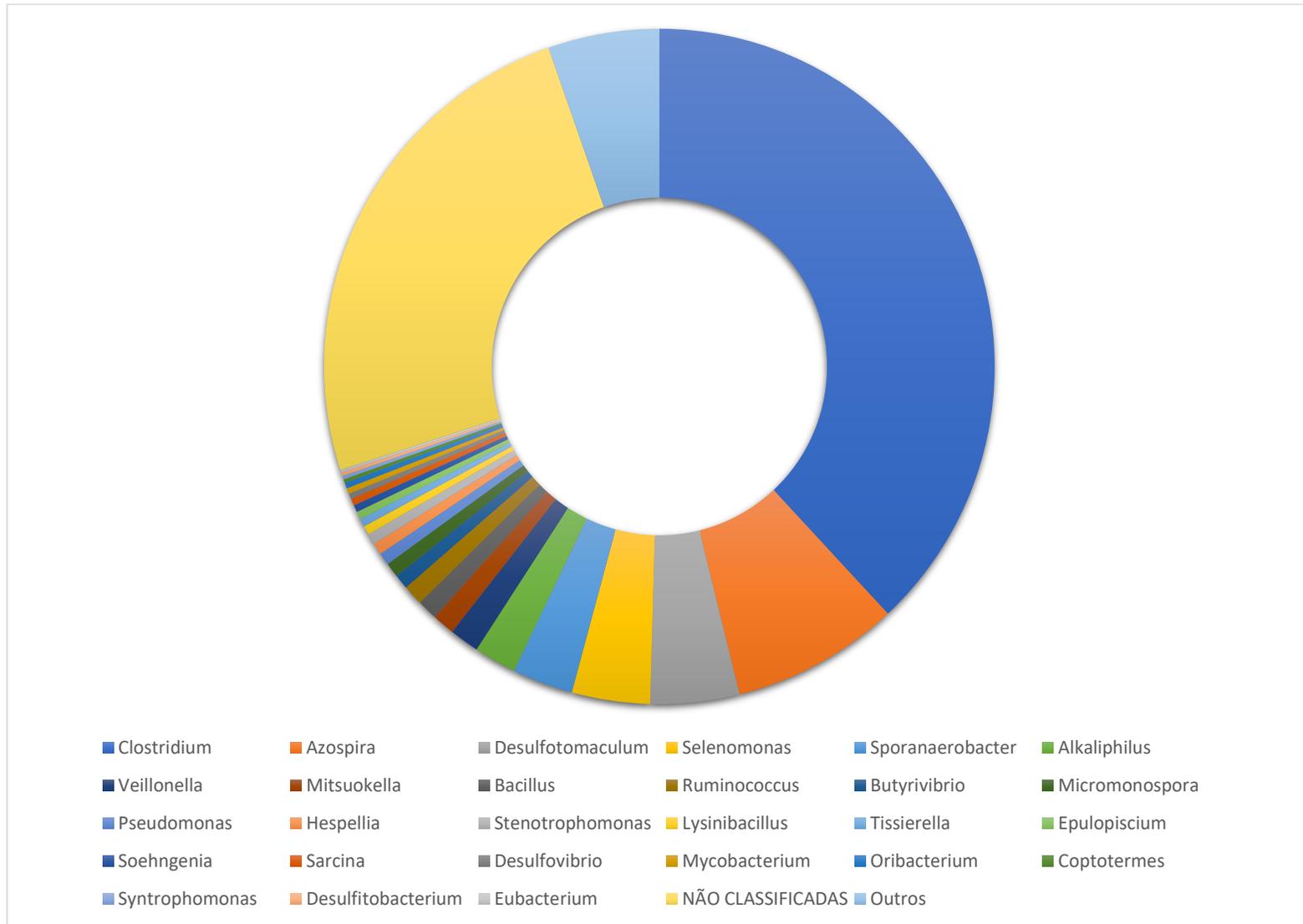
## APÊNDICE B – DIVERSIDADE MICROBIANA NO TRATAMENTO CONTROLE



### APÊNDICE C – DIVERSIDADE MICROBIANA NO TRATAMENTO COM NITRATO



## APÊNDICE D – DIVERSIDADE MICROBIANA NO TRATAMENTO COM SULFATO



### APÊNDICE E – DIVERSIDADE MICROBIANA NO TRATAMENTO COM FERRO

