



UNILASALLE
CENTRO UNIVERSITÁRIO LA SALLE



CARLOS EDUARDO SARAIVA MAUER

**AVALIAÇÃO DE EFICIÊNCIA DE UM BIOADITIVO COMERCIAL NO
TRATAMENTO DE EFLUENTE DOMÉSTICO UTILIZANDO UM PROTOTIPO DE
REATOR UASB**

Canoas, 2016

CARLOS EDUARDO SARAIVA MAUER

**AVALIAÇÃO DE EFICIÊNCIA DE UM BIOADITIVO COMERCIAL NO TRATAMENTO
DE EFLUENTE DE DOMÉSTICO UTILIZANDO UM PROTOTIPO DE REATOR UASB**

Programa de Pós Graduação em Avaliação de
Impactos Ambientais do Centro Universitário La
Salle - UNILASALLE

Orientadora Professora Dr^a. Eng^a. Gelsa Edith Navarro Hidalgo

Canoas, 2016

RESUMO

O presente trabalho aborda a avaliação da eficiência do uso de um bioaditivo comercial no tratamento de esgotos domésticos oriundos de um condomínio residencial da cidade de Porto Alegre. Foi desenvolvido para este experimento um pequeno sistema de tratamento de efluentes, em escala piloto, com reservatórios de esgoto bruto e duas unidades de protótipo que simulam a escala real de um reator anaeróbio tipo UASB. Operaram em fluxo contínuo de alimentação pelo período de oito semanas, em regime hidráulicos e operacionais idênticos, entretanto um dos protótipos, nomeado de Reator Teste, recebeu a introdução do bioaditivo selecionado para este experimento, enquanto o outro reator, chamado de Reator Branco não. Além do acompanhamento operacional e observação das funcionalidades do protótipo de reator anaeróbio, realizou-se o monitoramento analítico do efluente tratado e bruto, a partir de ensaios laboratoriais de diversos parâmetros de qualidade previamente estabelecidos. Os resultados obtidos puderam explicitar a eficiência agregada pelo uso da técnica de bioaugmentação no tratamento de esgotos.

Palavras-chave: Tratamento de esgotos. Reator anaeróbio. Bioaugmentação

ABSTRACT

The present work speaks about the evaluation of efficiency of the use of a commercial metabolic activator in the treatment of a domestic wastewater from an apartment block in the city of Porto Alegre. A small-scale sewage treatment system was developed for this experiment, using crude sewage tanks and two prototype units simulating the real scale of an Upflow anaerobic sludge blanket (UASB) operated in a continuous flow for eight weeks, in identical hydraulic and operational ways. One of them, named "Test Reactor", received the addition of the metabolic activator selected for this experiment, while the other reactor, called the "White Reactor", did not. In addition to the operational monitoring and observation of the functionalities of the anaerobic reactor prototype, the analytical monitoring of the treated and raw effluent was done, based on laboratory tests of several previously established quality parameters. The results could explain the efficiency obtained by the use of the bioaugmentation techniques in the treatment of wastewater.

Keywords: Wastewater treatment. Anaerobic reactor. Bioaugmentation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 OBJETIVOS	7
2.1 Objetivo geral	7
2.1 Objetivos específicos	7
3 REFERENCIAL TEÓRICO	8
3.1 Biotecnologia	10
3.1.1 <i>Biorremediação</i>	11
3.1.2 <i>Bioaditivos comerciais</i>	15
3.2 Tratamento de esgotos	21
3.2.1 <i>Microbiologia da digestão anaeróbia</i>	24
3.2.2 <i>Reatores anaeróbios</i>	34
3.2.3 <i>Esgotos domésticos</i>	39
3.3 Legislação	43
4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	45
4.1 Materiais	45
4.2 Métodos	51
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
6 CONCLUSÃO	66
7 TRABALHOS FUTUROS	67
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
REFERÊNCIAS	68
ANEXO A	82
ANEXO B	88
ANEXO C	89

1 INTRODUÇÃO

Durante séculos, o homem vem atribuindo um valor equivocado à natureza, visando apenas o interesse econômico. Em toda a sua história, procurou o desenvolvimento a qualquer custo, esquecendo de que a sua qualidade de vida está intimamente ligada à preservação dos recursos naturais. A explosão demográfica aliada a hábitos de consumo não condizentes com a capacidade de suprimento do planeta apresentam-se como um risco a própria existência do homem na Terra.

Inerente à presença humana está, a geração de efluentes domésticos que uma vez lançados na natureza sem o devido tratamento ocasionam sérios danos ambientais. O crescimento desordenado das cidades sobrecarregou o processo de autodepuração natural dos corpos hídricos. A matéria orgânica presente nesses efluentes ocasiona a redução do oxigênio dissolvido, implicando na mortalidade de peixes e outros organismos aquáticos que necessitam do oxigênio, além do escurecimento da água e aparecimento de maus odores motivado pelo desenvolvimento preferido nestas ocasiões das bactérias anaeróbias.

Além da geração expressiva de poluentes por cada habitante, o Brasil se ressentia de melhores percentuais de cobertura para os serviços de tratamento de efluentes, bem como melhorias e adequações aos sistemas existentes. Muitas estações de tratamento de efluentes (ETE) seja de grande porte ou sistemas simplificados como tanques sépticos e filtros biológicos, mesmo que funcionando corretamente, foram projetadas há muitos anos e não preconizavam um grau de eficiência satisfatório ao atendimento dos padrões de qualidade exigidos atualmente nas legislações brasileiras. Para várias ETE concebidas, a característica físico-química ou mesmo o volume de efluentes produzidos mudou tanto que o tratamento usual já não é mais suficiente para atingir os resultados desejados, tornando-os ineficientes. As adequações necessárias exigem altos investimentos em novas tecnologias e na maioria dos casos resultam na obrigatoriedade de ampliação das estruturas destinadas ao tratamento. Estes aprimoramentos esbarram na falta de recursos para tal ou mesmo na ausência de espaço físico na área para as devidas ampliações. Em ambos os casos, abordagens inovadoras de tratamento são necessárias para permitir simultaneamente a satisfação

das exigências ambientais, com rápida implementação e atendendo as condições econômicas.

Neste contexto, o presente trabalho aborda uma tecnologia de tratamento denominada de biodespoluição, que consiste basicamente na introdução de aditivos biológicos para melhorar o desempenho de sistemas de tratamento de efluentes domésticos. Também chamada de biorremediação, esta técnica tem sido praticada desde o início dos anos 60. Na década de 70 foram desenvolvidos produtos microbianos objetivando a melhoria operacional e a eficiência dos processos de tratamento de efluentes, mas apesar disso, estes não possuem uma larga aplicação nas empresas de saneamento, principalmente por não serem aplicados nas quantidades ou formas adequadas. A utilização de aditivos biológicos conta com trabalhos científicos que observaram seu uso em alguns tipos de sistemas de tratamento de efluentes, mas, em face da complexa interação dos microrganismos com o meio, é cogente a realização de testes verificando a eficiência destes insumos em outros cenários e condições específicas.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a influência de um produto bioaditivo comercial no tratamento de um efluente doméstico em escala piloto projetado neste trabalho.

2.2. Objetivos Específicos

- Dimensionar e construir um protótipo de reator UASB em escala piloto, isto é, em dimensões reduzidas.
- Avaliar o funcionamento do protótipo.
- Verificar o efeito e a eficiência do bioaditivo na replicação de microrganismos presentes nos processos de tratamento de efluentes.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

A disponibilidade de acesso ao saneamento básico é fundamental na infraestrutura urbana, tendo em vista seus impactos diretos e indiretos na preservação do meio ambiente e conseqüentemente no bem-estar da população.

Segundo Candido (2013), o saneamento básico pode ser entendido como a provisão da infraestrutura necessária para o abastecimento de água e o recolhimento e tratamento de esgoto para a população. Conforme a United States Environmental Protection Agency (USEPA) (2014), o saneamento pode ser definido como o controle de fatores físicos no ambiente antrópico que possam causar danos ao desenvolvimento, saúde, ou sobrevivência. Portanto o saneamento caracteriza o conjunto de ações socioeconômicas que tem por objetivo alcançar a salubridade ambiental.

O setor de saneamento básico, além de prover o acesso a um direito humano elementar de todos que é a água livre de doenças, apresenta inúmeras externalidades que impactam o meio ambiente e a saúde pública. Dessa forma, investir em saneamento se traduz em elemento estratégico para o desenvolvimento econômico de longo prazo do país. (SCRIPTORE; JUNIOR, 2012).

No entanto, estima-se que cerca de 25% dos habitantes do planeta Terra não têm acesso à habitação segura e a serviços básicos. Essas condições ambientais indesejáveis, o abastecimento de água insuficiente e sistemas de esgotos precários, são considerados obstáculos para o controle do desenvolvimento do surto de doenças e epidemias (TRATA BRASIL, 2008). Ainda neste enfoque Giatti et al. (2004) relatam que a saúde da população e vários óbitos estão diretamente relacionados à falta de saneamento básico adequado.

O crescimento desordenado das cidades, aliado à falta ou a um inadequado sistema de saneamento básico, tem resultado no agravamento do quadro epidemiológico. Além disso, tem causado sérios danos ao meio ambiente (BRASIL, 2007). Guimarães, et al (2007) explicam que investir em saneamento é uma das formas de se reverter o quadro existente. Isso, porque o saneamento promove a saúde pública preventiva, reduzindo a necessidade à busca pelos estabelecimentos de saúde, porque elimina a chance de contágio por diversas moléstias. Nesse sentido, acredita-se que

onde há o acesso ao saneamento básico adequado, as possibilidades de uma vida mais saudável são maiores.

No Brasil, os serviços públicos de saneamento básico é um direito assegurado pela Constituição Federal e definido pela Lei nº 11.445/2007, e tem como um de seus princípios a universalização dos serviços de saneamento básico, de modo que todos tenham acesso a eles. Entretanto, há uma grande parcela dos cidadãos brasileiros que não usufruem destes serviços. O ideal seria que suas coberturas fossem universais, contudo isso não se verifica no Brasil, nos casos específicos do abastecimento de água e da coleta de esgoto, existem sérios déficits de acesso distribuídos de forma desigual ao longo do país (SAIANI; GALVÃO, 2011).

Conforme Ribeiro e Rooke (2010), a utilização do saneamento como instrumento de promoção da saúde pressupõe a superação dos entraves tecnológicos, políticos e gerenciais que têm dificultado a extensão dos benefícios aos residentes nos municípios de pequeno porte.

Diversos especialistas consideram os esgotos domésticos um dos maiores, senão o maior, problema ambiental do Brasil (PINHEIRO, 2004). Uma forma de poluição ambiental tão comum, e presente em tantas comunidades brasileiras, expõe a população a riscos sérios de vida, e condena grande parte da população a uma qualidade de vida precária (PNUD BRASIL, 2004). Os esgotos domésticos também acabam sendo o meio de descarte de produtos químicos e de limpeza, utilizados comumente, mas que no meio ambiente representam riscos e causam a degradação da qualidade ambiental de recursos hídricos (CHAVES, 2006). A contaminação presente nos corpos d'água e esgotos, que apresentam altas concentrações de matéria orgânica, são os causadores do principal problema de poluição das águas, pois resultam no consumo do oxigênio dissolvido pelos microrganismos nos seus processos metabólicos de utilização e estabilização da matéria orgânica (VON SPERLING, 2014).

Mesmo que todas as evidências considerem o saneamento como a solução de inúmeros problemas ecológicos e sociais, o tema não parece ser prioridade nas agendas políticas. No Brasil, segundo o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento – SNIS, em seu último Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgoto –

2012, lançado em abril de 2014, é relatado que 93,2% da população urbana é atendida por rede de abastecimento de água e 56% é atendida com coleta de esgoto. Em relação ao esgoto gerado, somente 38,7% sofre algum tipo de tratamento. Neste cenário, mais de 60% do esgoto doméstico gerado no Brasil é lançado in natura nos corpos d'água e os outros quase 40% passam por tratamento, em uma tentativa por parte dos prestadores dos serviços de água e esgoto enquadrarem os seus efluentes às legislações federal e/ou estadual (SNIS, 2012). De acordo Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios – PNAD 2014, 37,2% dos domicílios avaliados possuem como tratamento, fossa séptica, fossa rudimentar ou nenhuma solução de tratamento de esgotos, índices muito abaixo dos satisfatórios.

Neste contexto uma das alternativas para a atenuação ou até mesmo a solução dos problemas com o saneamento é o uso da biotecnologia.

3.1 Biotecnologia

Representa o conjunto de técnicas que abrangem conhecimentos científicos biológicos e tecnológicos, aplicáveis aos processos interativos de organismos complexos e seus derivados (KRALOVÁNSZKY e FÁRI, 2006). Combina protocolos de pesquisa já existentes com novos procedimentos científicos derivados de diferentes disciplinas como bioquímica, biologia molecular e celular, engenharia química, ciências da computação, ciências materiais, genética, imunologia, fisiologia, microbiologia, dentre outras (KREUZER e MASSEY, 2002; COSTA, 2006). Permite cultivar microrganismos para produzir e desenvolver produtos para setores como a agricultura, alimentação, energia, eletrônica, meio ambiente, pecuária, química e medicina (SILVEIRA et al, 2002).

Surgem como alternativas em diversos processos em várias áreas, substituindo ou otimizando os meios tradicionais. Na Tabela 1 se apresentam os segmentos e os produtos escolhidos para aplicar a biotecnologia.

Tabela 1 - Exemplos de aplicação de biotecnologia

Segmentos	Produtos e serviços
Agricultura	Adubos, biopesticidas e biofertilizantes.
Alimentação	Panificação, laticínios e bebidas.
Energia	Etanol e biogás
Indústria	Butanol, acetona e glicerol.
Meio ambiente	Biorremediação
Pecuária	Transgênicos e vacinas
Saúde	Antibióticos, hormônios e vacinas.

Fonte: Adaptado de Mahalovic (2011)

Como pode ser observado que em quase todas as áreas é possível o uso da biotecnologia. Sendo assim, permite que as tecnologias sejam aplicadas nos mais diversos setores industriais, em que se distinguem três atividades: a engenharia genética, a engenharia de proteínas e a engenharia de metabólitos (BUENO 2008).

Em 1988, os cientistas começaram a utilizar microrganismos para limpar poluentes e lixos tóxicos produzidos por vários processos industriais, utilizando, por exemplo, a capacidade de algumas bactérias de produzirem enzimas específicas que convertem toxinas em substâncias menos nocivas (TORTORA et al, 2005). Assim os processos biotecnológicos nas últimas décadas têm conquistado um lugar de destaque no desenvolvimento tecnológico mundial, exibindo assim diversas características econômicas e operacionais que conferem vantagens em relação aos processos químicos convencionais (KIRK; BORCHERT; FUGLSANG, 2002; SAUER, et al., 2008; GORDEEVA; IVASHKIN ORDEEV, 2012; ERICKSON 2012, et al, AZMI, et al., 2015).

Entre as inúmeras aplicações para biotecnologia, as técnicas de biorremediação vêm conquistando espaços importantes na solução de problemas ambientais.

3.1.1 Biorremediação

A Biorremediação é uma tecnologia que utiliza as atividades biológicas por meio de organismos vivos, com capacidade de modificar ou decompor determinados

poluentes, transformando contaminantes em substâncias inertes (BARBOSA et al, 2013). É um processo no qual, organismos vivos, normalmente plantas ou microrganismos, são utilizados tecnologicamente para remover ou reduzir (remediar) poluentes do ambiente. A remoção pode ser realizada no local (*in situ*) ou fora deste (*ex situ*) (GAYLARDE et al, 2005).

Geralmente, são as bactérias que possuem papel central na biorremediação, entretanto, outros microrganismos como fungos e protozoários também podem contribuir (WATANABE, 2004). Baseia-se em três aspectos principais: a existência de microrganismos com capacidade metabólica para degradar o contaminante; a disponibilidade do contaminante ao ataque microbiano ou enzimático e condições ambientais adequadas para o crescimento e atividade do agente biorremediador. (PEREIRA e LEMOS, 2005; PASUMARTHI et al., 2013). Os processos biológicos de descontaminação, enquadrados na categoria de biorremediação, utilizam, geralmente, microrganismos do próprio ambiente, (autóctones/endógenos) ou introduzidos no ambiente (alóctones/exógenos), em estado nativo ou geneticamente modificados, encontrados em solos e em águas subterrâneas (MARTINS, 2004) com capacidade de biodegradar xenobióticos, resultando em produtos de degradação com estrutura menos recalcitrante em relação à molécula original, ou na mineralização do xenobiótico, sintetizando compostos químicos como moléculas e ânions tais como : CO_2 , H_2O , NH_3 , SO_4^{-2} e PO_4^{-2} (GAYLARDE et al., 2005).

Ao contrário de algumas formas de despoluição ambiental, em que as substâncias perigosas são removidas de um local apenas para serem jogadas em outro, a limpeza bacteriana elimina a substância tóxica e frequentemente devolve uma substância inofensiva ou útil ao ambiente (TORTORA et al., 2005). Zawierucha e Malina (2011) citam a biorremediação como sendo de baixo custo e ambientalmente amigável, pois acelera o processo de degradação da matéria orgânica. Para Tonini et al (2010), a biorremediação é considerada econômica em comparação a outros processos convencionais, apresenta baixo consumo de energia com perturbações mínimas em mudança de características físicas, químicas e biológicas do ambiente.

Dentre os diversos formatos e técnicas de aplicação para biorremediação pode-se destacar a bioaugmentação e a bioestimulação. A primeira pode ser definida como

sendo como a introdução de microrganismos alóctones no ambiente. Conforme Shinde (2013) a bioaugmentação é o fornecimento de um consórcio microbiano indígena ou exógeno ao resíduo contaminado para a promoção da degradação dos compostos poluentes. Propicia um aumento da população microbiana degradadora, ou seja, auxilia os microrganismos nativos. Esta técnica tem por objetivo melhorar o potencial biodegradador de um ambiente contaminado, sendo os microrganismos introduzidos chamados de inoculantes ou bioaditivos (GAYLARDE et al., 2005). Os microrganismos selecionados são inoculados em ambientes degradados, para se desenvolverem e metabolizarem em meios contendo substâncias tóxicas (WEBER e SANTOS, 2013).

Deve-se considerar ainda que os microrganismos encontram-se no ambiente em homeostase, ou seja, em equilíbrio. Quando se adiciona uma alta população microbiana para degradação de altas taxas orgânicas, a homeostase se rompe, permitindo uma maior degradação dos compostos orgânicos poluentes pelos microrganismos introduzidos e pelos nativos que estavam sendo impedidos de degradarem em todo o seu potencial, devido ao equilíbrio entre as populações presentes no meio. Esta alteração na microbiota propicia melhora na qualidade final do efluente, sendo que a tendência natural é que os micro-organismos nativos voltem a predominar, entrando novamente em equilíbrio no efluente (JERÔNIMO, 2012).

Outra possibilidade de aplicação da bioaugmentação ocorre nos casos em que a microbiota nativa, presente em um sistema e que vinha propiciando bons resultados na degradação dos compostos orgânicos, é eliminada ou diminuída devido ao choque de carga orgânica ou adição de produtos tóxicos, com a conseqüente redução na remoção da carga orgânica do efluente, ficando a natureza e a população sujeitas a focos de contaminação e poluição (JONES, 2012). A bioaugmentação pode representar uma forma rápida de atingir as metas de remoção de carga orgânica, assim como uma solução na otimização da operação das estações de tratamento de esgotos (MENDES, 2005; JONES, 2012).

Por outro lado o método de bioestimulação busca acelerar o processo de biodegradação dos contaminantes, somente com microrganismos já presentes na área residual. A adição de biosurfactantes, fertilizantes, oxigênio, biofortificantes, em locais contaminados estimula e aperfeiçoa o processo de degradação das substâncias tóxicas

existentes pelos microrganismos (WEBER e SANTOS, 2013). Conforme Gonçalves (2013), essa adição de nutrientes ao meio é uma importante ação para melhoria da capacidade degradativa de microrganismos capazes de metabolizar o composto poluente presente no local. O oxigênio também pode ser inserido para este método de bioestimulação, controlando-se condições como temperatura, umidade e pH do ambiente a ser descontaminado (SANDRI et al., 2012).

O uso tecnológico de bactérias para remover (remediar) ou reduzir poluentes no ambiente se mostra muito apto a degradar matérias xenobióticas e recalcitrantes, sendo bastante pesquisado e recomendado pela comunidade científica para tratamento de ambientes contaminados tais como solos, águas superficiais, subterrâneas e efluentes (GAYLARDE et al. 2005).

Segundo Metcalf e Eddy (2015), com o controle adequado do sistema, praticamente todos os efluentes contendo matéria biodegradável, podem ser tratados biologicamente, sendo, no entanto necessário conhecer o processo de geração desse efluente para que um ambiente propício seja garantido.

Cavalcanti (2009) completa que o processo biológico ocorre tanto na presença quanto na ausência de oxigênio, sendo processos que naturalmente ocorrem na natureza, podendo ser estimulados e potencializados. Assim as técnicas de biorremediação podem ser utilizadas em diversos sistemas de tratamento de esgotos como auxiliar nas etapas biológicas, tais como, lagoas de estabilização, sistemas de lodos ativados, bacias de infiltração e reatores anaeróbios. Os microrganismos (principalmente bactérias) são muito utilizados no tratamento de efluentes, pois usam a matéria orgânica do próprio efluente líquido como fonte de nutrientes, quebrando as cadeias de carbono e convertendo poluentes solúveis, em CO₂, água e biomassa que pode ser retirada mecanicamente (JONES, 2005). São fontes produtoras de enzimas, biosurfactantes e de vários outros produtos microbianos de interesse, obtidos pelo aproveitamento de resíduos agroindustriais de baixo custo oriundos de fontes renováveis (FOX, BALA, 2000; MANEERAT, 2005; NITSCHKE et al., 2005; MUKHERJEE et al., 2006; NITSCHKE, PASTORE, 2006).

Para Rosa (1995), a bioaumentação é capaz de alcançar seguintes resultados: eliminação do acúmulo de camadas de gordura, aumento da remoção de Demanda

Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Demanda Química de Oxigênio (DQO), maximização do desempenho das ETE, controle da formação de espuma em tanques de aeração e digestores, aumento da digestão de sólidos, aumento da resistência a choques de carga tóxica e sobrecarga orgânica; ocorrência da biodegradação de compostos orgânicos recalcitrantes, controle dos níveis de nitrificação, melhora significativa da clarificação dos efluentes, redução e eliminação da formação de odores, redução dos custos de manutenção e operação de ETE, e otimização da capacidade de bombeamento e de desaguamento.

Numa ETE, a temperatura ambiente, as condições de operação, diferentes equipamentos, bem como outros fatores, podem ser suficientes para afetar o desempenho de populações críticas para o resultado desejado. Alguns fatores podem até ser imperceptíveis, por não configurarem objeto de monitoramento específico, ou podem parecer individualmente insignificantes, mas no complexo funcionamento interdependente das populações microbianas da ETE, eles podem causar grandes divergências em seu desempenho (OCHIENG, 2002).

3.1.2 *Bioaditivos Comerciais*

Segundo Resolução CONAMA 463 de 2014 em seu Art. 2º, entende-se por remediador o produto ou agente de processo físico, químico ou biológico destinado à recuperação de ambientes e ecossistemas contaminados e ao tratamento de efluentes e resíduos e como biorremediador, o remediador que apresenta como ingrediente ativo microrganismos capazes de se reproduzir e de degradar bioquimicamente compostos e substâncias contaminantes.

Para atenuar as fragilidades naturais de um sistema de tratamento de efluentes, os bioaditivos para a bioaugmentação são produtos biotecnológicos, compostos por misturas de microrganismos, fungos ou bactérias saprófitas de ocorrência natural, não patogênicas, além de enzimas e nutrientes necessários para uma ótima atividade degradativa desses microrganismos (ROSA, 1995). Esses insumos utilizam à ação combinada de uma seleção de bactérias benéficas de origem natural, que se encontram normalmente no solo e na água. Seleccionadas e cultivadas em laboratório, esses

microrganismos inseridos constituem uma superpopulação que expulsa as bactérias nocivas e patogênicas provenientes da decomposição da matéria orgânica, repovoando os efluentes com bilhões de bactérias, que aceleram os processos de degradação (MACEDO, 2000).

Entre os microrganismos mais utilizados na composição destes bioaditivos comerciais estão os do gênero *Bacillus* sp. e *Pseudomonas* sp. O produto comercial Enzilimp®, utilizado como inoculante comercial neste trabalho, é formado por um consórcio de bactérias do gênero *Bacillus*, de duas espécies diferentes, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*.

O gênero *Bacillus* tem sido descrito na literatura como um excelente produtor de bioprodutos de origem microbiana, principalmente através de processos fermentativos (SCHALLMEY; SINGH; WARD, 2004; VANDIJL; HECKER, 2013; LOISEAU, et al., 2015). Atualmente, na *List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature* organizada pelo pesquisador J.P. Euzéby há citação de 318 espécies e de 7 subespécies no gênero *Bacillus* sp. Essas bactérias possuem como habitat natural o solo e a água, são grampositivas, não patogênicas e saprófitas. Tem a habilidade de dar forma a um endósporo, resistente, protetor, permitindo que o organismo tolere circunstâncias ambientais extremas (NAKANO et al., 1998). São bastonetes com extremidades retas ou arredondadas de tamanhos variáveis (0,5 X 1,2 µm até 2,5 x 10 µm), geralmente móveis graças aos cílios peritríquios. Apresentam elevada taxa de crescimento e de grande capacidade de secretar proteínas para um meio extracelular, apresentando estado de GRAS (*Generally Recognized As Safe*), exigência da FDA (*Food and Drug Administration*) para aplicação na área de alimentos (SCHALLMEY, et al, 2004).

Esse grupo de bactérias tem uma ampla versatilidade metabólica, faz parte da diversidade bacteriana de diversos ambientes naturais e antropogênicos (solo, ar, água, poeira de ossos em decomposição), estando também presentes na biota intestinal, e apresentam como característica marcante a capacidade de formar endósporos (CHANTAWANNAKUL, et al, 2002; LEE, TIN, KELLEY, 2007).

A maioria das espécies de *Bacillus* são quimioheterotróficas capazes de realizar respiração usando uma variedade de compostos orgânicos simples (açúcares,

aminoácidos e ácidos orgânicos). Em alguns casos, também realizam a fermentação de hidratos de carbono em uma reação que produz tipicamente o glicerol. A maioria é mesófila, com temperatura ótima entre 25 e 45°C, mas o gênero também contém um número de espécies termófilas com temperatura ótima acima de 65°C. Podem ser aeróbias, facultativas ou anaeróbias (TODAR, 2005).

Sob temperatura adequada, nutrição, pH, gases e outras condições, as células de *Bacillus* vão crescer e se dividir por fissão binária, com o septo de divisão que atravessa o centro da célula.

Devido às suas interessantes propriedades biológicas, as bactérias do gênero *Bacillus* são atraentes candidatas para inúmeras aplicações industriais. São simples de cultivar e secretam enzimas tais como proteases, amilases e celulases que são úteis para a limpeza de resíduos orgânicos. Conforme Bezerra et al. (2002) a amilase é uma das várias enzimas responsável pela degradação do amido, decompondo-o em resíduos de glicose. Conforme Bezerra et al. (2002) a amilase é uma das várias enzimas responsável pela degradação do amido, decompondo-o em resíduos de glicose.

Presente no bioaditivo utilizado no trabalho, o *Bacillus subtilis* é uma bactéria Gram-positiva, formadora de esporos, capaz de crescer em aerobiose e anaerobiose (NAKANO 1998). Possui temperatura ótima de crescimento de 28° C a 30°C, variando entre 50°C a 20°C e máxima de 45°C a 55°C. O crescimento ocorre em pH entre 5,5 e 8,5, cresce em presença de até 7% de NaCl (DE VOS, 2009). Foi classificado como aeróbio estrito por muitos anos, sendo apenas em 1993, identificado seu metabolismo anaeróbio (PRIEST, 1993). Este microrganismo é capaz de crescer em anaerobiose, seja pela utilização de nitrato como acceptor final de elétrons ou por fermentação na ausência de aceptores (NAKANO et al., 1997).

Outro microrganismo presente no bioaditivo estudado é o *Bacillus licheniformis*. É uma bactéria Gram-positiva, em forma de bastonete, encontrada principalmente no solo e em penas de aves, é apatogênica aos homens e as plantas, apresenta motilidade, e é capaz de produzir esporos que apresentam resistência às condições ambientais adversas, seus esporos podem ser armazenados por longos períodos, o que torna viável a sua utilização para fins industriais como: produção de enzimas,

antibióticos, pequenos metabólitos e formulação de produtos comerciais (VEITH et al., 2004). Pertence ao grupo de bactérias melhor adaptadas à vida no solo e na água, cujas espécies têm sido isoladas de ambientes mesofílicos e termofílicos (SOUZA, SILVA-SOUZA, 2001). O *Bacillus licheniformis* tem temperatura mínima de crescimento de 15°C e máxima de 50°C a 55°C, o crescimento ocorre em pH 5,7 e 6,8, e também cresce em presença de até 7% de NaCl (De Vos, 2009), sendo sua temperatura ótima para a secreção da enzima de 37°C. Devido à formação de endósporos, este organismo possui capacidade de sobreviver sob condições desfavoráveis do ambiente e pode melhorar o seu potencial como um agente de biocontrole natural (REY et al., 2004). Esta espécie está intimamente relacionada com o *Bacillus subtilis* e é amplamente utilizada para grande escala de produção industrial de exoenzimas (proteases e amilase) que podem secretar grandes quantidades de proteínas de até 20-25 g/L (REY et al., 2004 & VEITH et al., 2004). Devido à atividade hemolítica, esses microrganismos são produtores de biosurfactantes em potencial (YOUSSEF et al., 2013)

Produzidas por certos microrganismos atuantes nos processos biológicos de tratamento de esgotos, as enzimas exercem papel fundamental na degradação da matéria orgânica e demais poluentes. As enzimas são proteínas presentes e atuantes no metabolismo de todos os seres vivos, com capacidade de catalisar e acelerar reações químicas. São biocatalisadores de natureza proteica, produzidos por animais, vegetais e microrganismos (FELIX, NORONHA, MARCO, 2004). É importante ressaltar que as enzimas de origem microbiana podem substituir quaisquer enzimas de origem animal e vegetal e representam a maior parte das enzimas comercializadas atualmente (BON et al., 2008). São fundamentais para os processos de quebra de nutrientes complexos em substâncias mais simples. (ZANOTTO, 2003). Alguns exemplos de enzimas e microrganismos produtores podem ser visualizados na Tabela 2.

Tabela 2 – Enzimas e microrganismos produtores

Enzima	Atuação	Microrganismo produtor
Amilase	hidrolisam o amido	Bacillus subtilis, Aspergillus oryzae, Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Aspergillus awamori.
Lipase	hidrolisam triglicerídeos	Aspergillus niger, Bacillus subtilis.
Protease	hidrolisam proteínas	Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis.

Fonte: Adaptado TOMATONI et al, 2005.

Geralmente, essas enzimas são grandes proteínas globulares, possuindo uma forma tridimensional característica. Essa forma específica permite que a enzima encontre o substrato correto dentre as várias opções existentes (TORTORA et al., 2005). Possui sitio ativo, ou seja, uma região onde irá interagir com uma substância química específica (TORTORA et al., 2005). Podem ser provenientes tecidos de organismos diferenciados (células animais e vegetais) ou de microrganismos.

Os microrganismos utilizam enzimas para catalisar a degradação de proteínas e aminoácidos, de gorduras a glicerol e ácidos graxos e de polissacarídeos em monossacarídeos. Estes produtos podem, então, ser convertidos em outros compostos que podem ser utilizados pelas principais vias de degradação da célula, como por exemplo, a glicólise (PELCZAR et al, 2005). As enzimas orientam o substrato até um local onde a probabilidade de que uma reação ocorra seja maior. A ligação entre a enzima e o substrato faz com que as colisões sejam mais eficientes, não sendo mais necessária a mesma energia de ativação de antes, diminuindo assim a energia de ativação da reação (TORTORA et al., 2005). Então, a enzima acelera a reação sem a necessidade de alterações na temperatura, sendo extremamente importante para sistemas vivos, pois um aumento de temperatura pode significar a destruição de proteínas celulares (TORTORA et al., 2005).

Alguns fatores devem ser observados para que a atividade enzimática seja a mais eficiente (TORTORA et al., 2005):

- temperatura: a velocidade das reações biológicas aumenta com o aumento da temperatura. Elevações acima da temperatura ótima de crescimento reduzem drasticamente a velocidade da reação. Isso ocorre devido à desnaturação da enzima, ou seja, a perda da estrutura tridimensional dela (TORTORA et al., 2005).

- pH: acima ou abaixo do pH ótimo e específico de cada enzima, no qual sua atividade é máxima, ocorre uma diminuição na velocidade da reação pela diminuição da atividade da enzima (TORTORA et al., 2005).

- Inibidores: a presença de inibidores enzimáticos pode impedir o funcionamento das enzimas ao ocuparem os lugares ativos das mesmas, provocando efeitos tóxicos que interferem nos mecanismos de reprodução. (TORTORA et al., 2005).

Além das enzimas, os surfactantes são compostos químicos também produzidos por via microbiana, que apresentam valor econômico e de ampla aplicação em diversos setores. São moléculas anfifílicas, ou seja, possuem características tanto polar (hidrofílico) como apolar (lipofílico) e apresentam propriedades tensoativas. Existem dois tipos principais: (i) aqueles que reduzem a tensão superficial na interface ar-água (biosurfactantes), e (ii) aqueles que reduzem a tensão interfacial entre líquidos imiscíveis ou na interface sólido-líquido (bioemulsificantes) (LUNA et al., 2012; BATISTA et al., 2010).

Geralmente exibem capacidade de emulsificação, mas bioemulsificantes não necessariamente reduzem a tensão superficial (LUNA et al., 2012; BATISTA et al., 2010). A emulsificação dos lipídeos pela decomposição das micelas favorece a ocorrência de hidrólise, uma vez que as enzimas solúveis em água terão maior superfície de contato com o substrato a ser hidrolisado.

Biosurfactantes naturais exibem baixa toxicidade e boa biodegradabilidade e aceitabilidade ecológica, fornecendo uma alternativa para surfactantes químicos convencionais. Em contraste aos surfactantes químicos, geralmente derivados do petróleo, os biosurfactantes podem ser produzidos por processos fermentativos microbianos, a partir de vários substratos renováveis, tais como óleos vegetais e rejeitos de destilaria e laticínios (ABOUSEOUD et al., 2007; GHARAEI-FATHABAD, 2011). Ecologicamente o papel dos biosurfactantes inclui aumento da superfície de contato e biodisponibilidade de substratos hidrofóbicos insolúveis em água, ligação a

metais pesados, patogênese microbiana e formação de biofilme (GHARAEI-FATHABAD, 2011). Eles são aplicáveis economicamente para proteção ambiental, biorremediação de solo, gestão de resíduos (VAN DYKE et al., 1991), recuperação de óleo bruto, limpeza de águas subterrâneas contaminadas com hidrocarbonetos (RON & ROSENBERG, 2001), agentes antimicrobianos na saúde, inibidores da formação de coágulos de fibrina, ação anti-adesiva contra microrganismos patogênicos (MOUSSA et al., 2006).

3.2 Tratamento de esgotos

De uma maneira geral, entre 1900 a 1970 os objetivos do tratamento eram associados remoção de sólidos suspensos e flotáveis, tratamento de orgânicos biodegradáveis e eliminação de organismos patogênicos. A remoção dos poluentes constitui o objetivo do tratamento de efluentes (METCALF e EDDY 2015). A partir de 1980, os objetivos dos anos 70 se mantiveram, mas a ênfase mudou considerando a definição e a remoção de constituintes que poderiam causar efeitos de longo prazo sobre a saúde e impactos ambientais. Conseqüentemente, embora os antigos objetivos de tratamento ainda permaneçam válidos, os níveis de tratamento requeridos aumentaram significativamente, e novos objetivos e metas foram adicionados. Portanto, os projetos de sistemas de tratamento devem se submeter aos objetivos de qualidade de água ou a padrões estabelecidos pelas autoridades regulatórias (METCALF e EDDY 2015).

A estrutura destinada a esta tarefa é a estação de tratamento de esgotos (ETE), que de acordo com a NBR 12209:2011(ABNT), é o conjunto de unidades de tratamento, órgãos auxiliares, acessórios e sistemas de utilidades, cuja finalidade é a redução das cargas poluidoras do esgoto sanitário e condicionamento da matéria residual resultante do tratamento.

Devido à diversidade de tecnologias e arranjos de tratamento conhecidos, não existe uma única solução que abranja todas as situações. Para atingir resultados satisfatórios, existem vários processos de tratamento, baseados em fenômenos ou princípios físicos, químicos ou biológicos, ou ainda, em suas combinações, que

desejavelmente deverão adequar-se ao cenário e objetivo proposto. Conforme Von Sperling (2014), o tratamento de efluentes é usualmente classificado de acordo com os seguintes níveis: preliminar; primário; secundário e terciário.

O tratamento preliminar objetiva apenas a remoção dos sólidos grosseiros, enquanto o tratamento primário visa remoção de sólidos sedimentáveis e parte da matéria orgânica. Em ambos predominam os mecanismos físicos de remoção de poluentes, porém no primário também ocorra princípios biológicos.

Já no tratamento secundário, no qual predominam mecanismos biológicos, o objetivo é principalmente a remoção da matéria orgânica e eventualmente nitrogênio e fósforo. O tratamento terciário objetiva a remoção de poluentes específicos (usualmente tóxicos ou compostos não biodegradáveis) ou ainda, a remoção complementar de poluentes não suficientemente removidos no tratamento secundário.

Os métodos de tratamento também dividem-se em operações e processos unitários e a integração desta compõe os sistemas de tratamentos (VON SPERLING 2014). O conceito de operação e processo unitário é por vezes utilizado intercambiadamente, pelo fato deles poderem ocorrer simultaneamente numa mesma unidade de tratamento. De forma geral, pode-se adotar as seguintes definições (METCALF e EDDY 2015).

Operações físicas unitárias: método de tratamento no qual predomina a aplicação de forças físicas. Como exemplo, temos o gradeamento, floculação, sedimentação, flotação e filtração.

Processos químicos unitários: Método de tratamento nos quais a remoção ou conversão de contaminantes ocorrem pela adição de produtos químicos ou devido às reações químicas. Precipitação, adsorção e desinfecção são exemplos desses processos.

Processos biológicos unitários: método de tratamento nos quais a remoção de contaminantes ocorre por meio de atividade biológica. A remoção de matéria orgânica carbonácea, nitrificação e desnitrificação são exemplos aplicáveis.

Dentre as várias tecnologias disponíveis para o tratamento de efluentes, a via biológica vem recebendo grande destaque. Pois além de apresentar menor consumo de energia, podem ser potencialmente eficientes, haja vista que a mineralização promove

a destruição permanente dos resíduos e elimina os riscos de futuras contaminações, aumentando o nível de aceitação por parte da opinião pública (NETO et al. 2006; VIDALI, 2008). Ademais os processos biológicos podem ser combinados a outros processos para o aumento da eficiência global do tratamento (MELLO, 2007; NETO et al. 2006). A essência dos processos biológicos de tratamento de esgotos reside na capacidade dos microrganismos envolvidos utilizarem os compostos orgânicos biodegradáveis, transformando-os em subprodutos, que podem ser removidos do sistema de tratamento. Os subprodutos formados podem se apresentar na forma sólida (lodo biológico), líquida (água) ou gasosa (gás carbônico, metano, etc) (CHERNIACHARO 2007).

Deste modo as estações de tratamento de esgotos que se baseiam neste pilar biológico, procuram reproduzir em dispositivos e estruturas projetados, boas condições aos fenômenos biológicos observados na natureza, favorecendo suas interações e desenvolvimento, condicionando-se em área e tempo economicamente viáveis. Classificam-se essencialmente em sistemas aeróbios, que utilizam oxigênio dissolvido na massa líquida durante o tratamento, e anaeróbios que desempenha suas atividades bioquímicas na ausência de ar (JORDÃO & PESSÔA, 2014). Desta forma qualquer que seja o processo adotado aeróbio ou anaeróbio, a capacidade de utilização dos compostos orgânicos depende da atividade microbiana da biomassa presente (CHERNIACHARO 2007).

Na digestão anaeróbia, princípio adotado no trabalho, o processo biológico natural ocorre na ausência de oxigênio molecular, onde populações de microrganismos interagem para promover a depuração estável e autorregulada da matéria orgânica (SCHNEIDERS et al., 2013).

Como resultado da biodigestão anaeróbia do resíduo ocorre a produção de biogás (DA SILVA et al., 2012). É constituído em sua maior parte por metano e dióxido de carbono (SCHNEIDERS et al., 2013). Assim, a biodigestão anaeróbia também representa uma alternativa para o tratamento de resíduos, pois além de permitir a redução do potencial poluidor e dos riscos sanitários dos resíduos ao mínimo, promove a geração do biogás, utilizado como fonte de energia alternativa (DA SILVA et al., 2012).

Segundo Chernicharo (2007), o tratamento anaeróbio de efluentes é bastante atrativo para países de clima tropical, uma vez que a aplicabilidade dessa tecnologia depende de fatores ambientais que, neles são favoráveis. Em países como México, Equador, Colômbia, Indonésia, Venezuela e Brasil já se encontram em operação diversas estações de tratamento com tecnologia anaeróbia. Oferecem uma alternativa de tratamento de baixo consumo de energia e custo operacional, em substituição aos processos de custos mais elevados, como o sistema de lodos ativados ou, ainda, para diminuir áreas destinadas ao tratamento por sistema de lagoas. (VELA, 2006). Também possuem aplicabilidade em pequenas e grandes escalas, tolerando elevadas cargas orgânicas e exigindo baixa demanda de área (CHERNICHARO, 2007).

Os biodigestores são grandes exemplos de processos biológicos anaeróbios, tecnologia estudada e aceita em outros países. São muito utilizados em casos de tratamentos de efluentes e permite a reciclagem do mesmo, podendo ser utilizado como biofertilizante (LEITE et al., 2014). Segundo Von Sperling (2014), reatores anaeróbios tipo UASB, tanques sépticos e lagoas anaeróbias, são exemplos de sistemas, cujo tratamento se baseia na digestão anaeróbica.

3.2.1 *Microbiologia da digestão anaeróbia*

A digestão anaeróbia (DA) é um processo biológico no qual diferentes grupos de microrganismos decompõem materiais orgânicos biodegradáveis na ausência de oxigênio molecular livre. Uma série de reações metabólicas, tais como hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese estão envolvidos no processo de decomposição anaeróbia (PARK et al., 2005; CHARLES et al., 2009). Sabendo que tal processo é de dominância de microrganismos, a microbiologia dos processos de DA é complexa, pois a eficiência do processo depende das interações de vários grupos tróficos bacterianos envolvidos (ALVARADO et al., 2014). As duas principais reações que ocorrem no processo metabólico são as reações catabólicas e as reações anabólicas (CHERNICHARO, 2007). Lettinga (2004) e McCarty (1964), mostram que as reações catabólicas quebram as moléculas complexas de matéria orgânica,

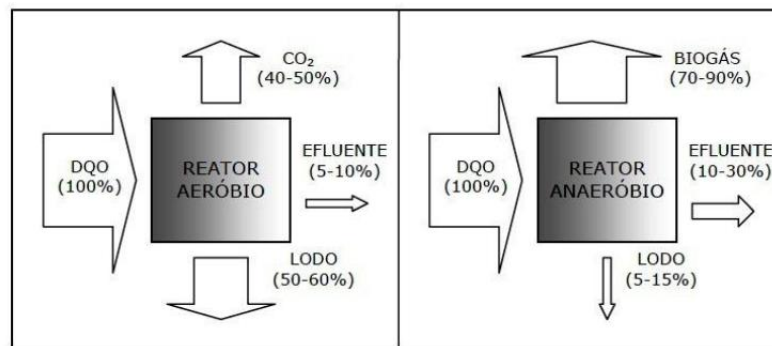
transformando-as em substâncias mais simples, liberando assim, a energia armazenada na forma química, dentro dos compostos orgânicos.

As reações anabólicas são responsáveis pela síntese celular, formando assim moléculas mais complexas que necessitam de energia. Essas duas atividades ocorrem simultaneamente, onde a energia liberada no processo de desassimilação é aproveitada no processo de assimilação, resultando na produção de outras células vivas pela atividade de assimilação. Dentro deste contexto, Von Sperling (2014) comenta que a remoção biológica de poluentes em efluentes ocorre através do processo catabólico.

Estima-se que a digestão anaeróbia, com formação de metano, seja responsável pela completa mineralização de 5 a 10% de toda a matéria orgânica disponível na terra (CHERNICHARO, 2007). Representa um sistema ecológico delicadamente balanceado, envolvendo processos metabólicos complexos, que ocorrem em etapas sequenciais, e que dependem da atividade de, no mínimo, três grupos fisiológicos de microrganismos: a) bactérias fermentativas (ou acidogênicas); b) bactérias sintróficas (ou acetogênicas); e c) microrganismos metanogênicos (CHERNICHARO, 2007).

Nos sistemas anaeróbios, verifica-se que a maior parte do material orgânico biodegradável presente no despejo é convertida em biogás (cerca de 70 a 90%), que é removido da fase líquida e deixa o reator na forma gasosa. Apenas uma pequena parcela do material orgânico é convertida em biomassa microbiana (cerca de 5 a 15%), vindo a se constituir no lodo excedente do sistema.

Figura 1 – Conversão biológica nos sistemas aeróbios e anaeróbios



Fonte: Chernicharo, 2007.

Através da Figura 1, Chernicharo (2007), observa que em sistemas aeróbios, apenas 50% do efluente é convertido em CO_2 , além de uma grande produção de lodo. Salienta-se que não há produção de biogás em sistemas aeróbios. O material orgânico que não é convertido em gás carbônico e biomassa deixa o sistema como material não degradado (5 a 10%). Segundo o mesmo autor, em sistemas anaeróbios a maior parte do material orgânico é convertida em CH_4 e CO_2 , podendo chegar a 90%. Há uma total de matéria orgânica. O material não degradado (10 a 30%) que deixa o sistema não foi degradado, sendo por isso, necessária muitas vezes um pós-tratamento (CHERNICHARO, 2007).

Para a digestão anaeróbia de material orgânico complexo, como proteínas, carboidratos e lipídios, podem-se distinguir quatro etapas diferentes no processo global da conversão que são a hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. A hidrólise é a primeira etapa no processo anaeróbio onde ocorre a conversão de materiais particulados complexos (polímeros), em materiais dissolvidos mais simples (monômeros), os quais podem atravessar as paredes celulares das bactérias fermentativas. Esta conversão de materiais particulados em materiais dissolvidos é conseguida através da ação de exoenzimas (enzimas que atuam fora da membrana citoplasmática ou conhecidas também como enzimas hidrolíticas) (CHERNICHARO, 2007).

Na anaerobiose, a hidrólise dos polímeros usualmente ocorre de forma lenta, sendo que vários fatores podem afetar o grau e a taxa em que o substrato é hidrolisado, tais como: temperatura de operação do reator, tempo de residência do substrato no reator, composição do substrato (ex.: teores de lignina, carboidrato, proteína e gordura), tamanho de partículas, pH, concentração de produtos tóxicos, concentração de produtos da hidrólise (ácidos orgânicos voláteis) (LETTINGA et al., 1996, apud CHERNICHARO, 2007). Os produtos solúveis oriundos da fase de hidrólise são metabolizados no interior das células das bactérias fermentativas, sendo convertidos em diversos compostos mais simples, que são excretados pelas células. Os compostos produzidos incluem ácidos graxos voláteis, álcoois, ácido lático, gás carbônico, hidrogênio, amônia e sulfeto de hidrogênio, além de novas células bacterianas. Os microrganismos fermentativos são os primeiros a atuar na degradação do substrato, e

são os que mais se beneficiam energeticamente, por isso, a etapa acidogênica será a limitante do processo se o material a ser degradado não for facilmente hidrolisável (CHERNICHARO, 2007).

A segunda etapa denominada acidogênese é também conhecida como fermentação acidogênica ou *dark fermentation*. A maioria das bactérias acidogênicas é anaeróbia estrita, mas cerca de 1% consiste de bactérias facultativas que podem oxidar o substrato orgânico por via oxidativa. Este fato é particularmente importante, uma vez que as arqueas metanogênicas são protegidas contra a exposição ao oxigênio eventualmente presente no meio (Van Haandel e Lettinga, 1994; Lettinga et al., 1996, apud citado por Chernicharo 2007). Geralmente as bactérias acidogênicas possuem um tempo de duplicação curto (poucas horas) e, por isso, a acidogênese não é considerada como uma etapa limitante da digestão anaeróbia (RIBEIRO, 1999). Alguns produtos da fermentação, especialmente acetato, H₂, CO e outros compostos de um único átomo de carbono podem ser convertidos diretamente pelas arqueas metanogênicas a metano e dióxido de carbono.

Na terceira etapa anaeróbica denominada acetogênese. As bactérias acetogênicas convertem os produtos gerados na fase acidogênica (orgânicos intermediários como propionato e butirato) em acetato, dióxido de carbono, hidrogênio ou formiato, os quais servem de substrato para as arqueas metanogênicas. Estas bactérias produzem acidez acética a partir de hidrogênio e dióxido de carbono e a partir de metanol (FERNANDES, 2004). A formação de acetato resulta na produção de grande quantidade de H₂, fazendo com que o valor do pH no meio aquoso decresça. As bactérias acetogênicas obrigatórias produtoras de hidrogênio apresentam condição termodinâmica favorável quando o seu metabolismo ocorre em ambiente de reduzida pressão parcial de hidrogênio molecular, desta forma a presença de H₂ no meio reacional pode conduzir a processo de inibição da produção de ácido acético. A atividade das bactérias sintróficas acetogênicas depende, portanto da atividade de microrganismos consumidores de hidrogênio em um mecanismo de cooperação denominado transferência interespecie de hidrogênio.

A última etapa é completada pela metanogênese. Neste estágio final ocorre o processo global de degradação anaeróbia de compostos orgânicos em metano e

dióxido de carbono, quando atuam preferencialmente microrganismos metanogênicos, atualmente classificados dentro do domínio Archaea, um grupo reconhecido como distinto entre bactérias típicas. A conversão da matéria orgânica complexa a metano requer um consórcio de cadeia alimentar como supracitado e finaliza com os organismos metanogênicos que são estritamente anaeróbios pertencentes ao reino das arqueas. Todos os produtos da fase fermentativa são convertidos em compostos utilizáveis direta ou indiretamente por microrganismos formadores de metano. Os produtos não degradados por estes microrganismos acumulam-se na suspensão biológica do digestor, e conseqüentemente, incrementam significativamente a DQO do efluente do digestor (GERARDI, 2003). De acordo com Demirel e Scherer (2008) os microrganismos metanogênicos podem ser divididos em dois grupos: hidrogenotróficos e acetotróficos. Os hidrogenotróficos utilizam apenas o H_2 e o CO_2 para a formação do metano e por conseqüência a sua atividade é essencial para a eficiência do processo de DA visto que a pressão parcial do hidrogênio é um parâmetro que regula a estabilidade e as variações neste processo. Utilizam o gás carbônico como fonte de carbono e acceptor de elétrons, e o hidrogênio como fonte de energia. As arqueas metanogênicas hidrogenotróficas têm por função manter o equilíbrio termodinâmico do hidrogênio no processo de digestão (RAMIRES, 2005). As bactérias metanogênicas consumidoras de H_2 rapidamente eliminam o hidrogênio, mantendo uma pressão parcial deste gás extremamente baixa evitando por conseqüência a redução do pH do meio reacional (APPLES et al., 2008, DEMIREL; SCHERER, 2008). Enquanto que as arqueas hidrogenotróficas apresentam metabolismo limitado ao desempenho das bactérias acetogênicas produtoras de hidrogênio, as metanogênicas acetoclásticas são responsáveis pela degradação do ácido acético e álcoois produzidos nas fases precedentes.

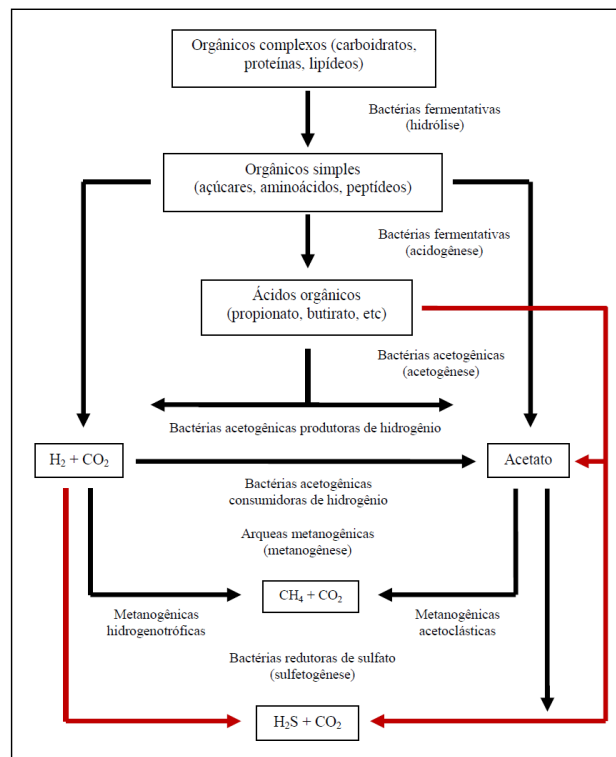
Outro fator importante reside na sua cinética bacteriana, pois conforme Salomon (2000) o crescimento das bactérias metanogênicas acetoclásticas é muito mais lento que o das hidrogenotróficas, com um tempo de duplicação de cerca 2 a 3 dias para a primeira e de 6 horas para a segunda respectivamente. Da metanogênese acetoclástica resulta a produção de aproximadamente 70% do biogás oriundo da DA, As arqueas

metanogênicas acetoclásticas são as grandes responsáveis pela produção de metano na digestão anaeróbia.

O estágio da metanogênese é considerado limitante de todo o processo de digestão anaeróbia, devido à baixa taxa de crescimento das arqueas. Mais precisamente as arqueas metanogênicas acetoclásticas são as reais limitantes por serem responsáveis pelo maior percentual de produção. Desta forma, é importante que sejam oferecidas às condições ideais para o desenvolvimento normal dessa população (RAMIRES, 2005).

Na Figura 2 é apresentado um resumo da sequência das etapas anaeróbias até aqui descritas.

Figura 2 – Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos no processo de digestão anaeróbia.



Fonte: Chernicharo, 2007

Além dos processos descritos anteriormente, determinadas condições do meio podem ocasionar outras rotas metabólicas em um reator anaeróbio, é o caso da sulfetogênese. A produção de sulfetos é um processo no qual os compostos à base de

enxofre são utilizados com aceptores de elétrons, durante a oxidação de compostos orgânicos. Neste processo, sulfato, sulfito e outros compostos sulfurados são reduzidos a sulfeto, através da ação de um grupo de bactérias anaeróbias estritas, denominadas bactérias redutoras de sulfato (ou bactérias sulforedutoras) que promovem o metabolismo dissimilatório, ou seja, a redução desassimilativa do íon sulfato (aceptor final de elétrons). É a capacidade de utilizar acetato e hidrogênio que torna as bactérias redutoras de sulfato agentes competidores por substratos comuns aos das metanogênicas. Neste caso, a concentração de sulfato no meio é que vai definir qual o processo predominante na utilização do acetato e hidrogênio. Na ausência de sulfato, o processo de digestão anaeróbia ocorrerá de acordo com as sequências metabólicas anteriormente. Com a presença do sulfato em uma água residuária muitos dos compostos intermediários, formados através das rotas metabólicas identificadas na Figura 2, passam a ser utilizados pelas bactérias sulforedutoras, provocando uma alteração nas rotas metabólicas no digestor anaeróbio. Dessa forma, as bactérias sulforedutoras passam a competir com as bactérias fermentativas, acetogênicas e metanogênicas pelos substratos disponíveis. A importância dessa competição bacteriana é maior quando ocorre o aumento da concentração relativa de SO_4^{2-} , em relação à concentração de DQO. Portanto, do ponto de vista de eficiência de remoção de DQO da fase líquida, a sulfetogênese é melhor que a metanogênese. Todavia, a DQO removida pela sulfetogênese leva à produção do gás sulfídrico, e pode resultar em problemas de corrosão, emissão de maus odores e toxicidade do meio. Ademais não se teria produção de metano, que pode ter seu conteúdo energético aproveitado dentro ou fora da ETE.

Outro fator de suma importância para o conhecimento da atividade biológica é a cinética bioquímica, pois avalia as velocidades de crescimento dos microrganismos, as velocidades de consumo de substrato e de formação de produtos. Tais velocidades podem ser expressas em termos matemáticos por modelos que representem adequadamente a dinâmica desses processos. Existe uma grande dificuldade em se descrever matematicamente essas cinéticas de conversão, devido à complexidade dos substratos e ao envolvimento de diversas populações bacterianas. Porém, modelos matemáticos complexos não são desejáveis, especialmente se eles não conseguem

descrever com propriedade as reações do processo envolvidas (FORESTI et al., 1999; CHERNICHARO, 2007).

Podemos dividir esse crescimento em quatro fases, conforme consta a seguir (METCALF e EDDY 2015).

Na Fase Lag, por estarem em um novo meio, as bactérias não se reproduzem imediatamente. É um período que ocorre pouca ou nenhuma divisão celular, podendo durar uma hora ou até vários dias, no qual as células encontram-se em um estado de latência. Nessa fase há uma intensa atividade metabólica, principalmente na síntese de enzimas e de moléculas variadas.

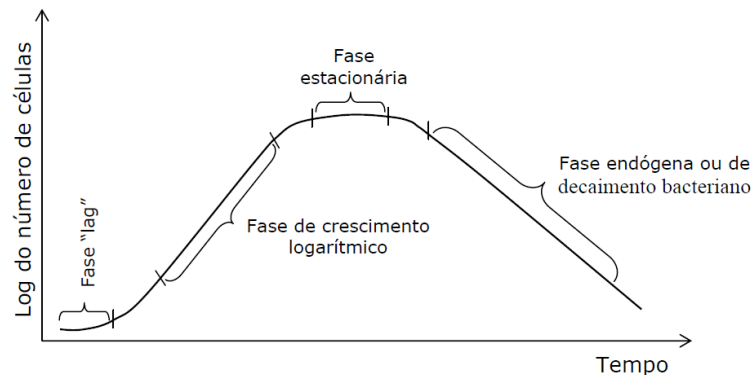
A etapa chamada Fase Log, também conhecida como fase de crescimento exponencial, as células iniciam seu processo de divisão e começam o período de crescimento ou aumento logarítmico. Esta é uma fase em que a reprodução celular está extremamente ativa e o tempo de geração se torna um valor constante, por isso o gráfico do crescimento se torna uma linha reta. Durante esta fase, os microrganismos se tornam muito sensíveis às mudanças ambientais e alguns compostos químicos afetam fases importantes do desenvolvimento celular e se tornam extremamente danosos a eles.

Porém em algum momento do crescimento, a velocidade de duplicação diminui e o número de células novas se torna equivalente ao número de morte celular, tornando a população estável. Esta etapa é conhecida por Fase Estacionária.

Além disso, a atividade metabólica das células decresce. Os motivos para que a atividade metabólica decresça são desconhecidos, mas alguns fatores podem influenciar, como a escassez de nutrientes, acúmulo de produtos devido à biodegradação, mudanças bruscas de pH, entre outros fatores impactantes.

Por fim, tem-se a Fase Endógena ou de Morte Celular, também chamada de fase de declínio. Neste período há um maior número de células mortas do que o de células vivas. Isso ocorre até que se tenha uma pequena fração das células presentes na fase anterior ou até que as células desapareçam (TORTORA et al., 2005). No gráfico da Figura 3 são demonstradas as etapas do perfil de crescimento bacteriano.

Figura 3 – Curva típica do perfil de crescimento bacteriano ao longo do tempo, em um sistema fechado.



Fonte: Metcalf & Eddy (2015).

Tanto as características físicas do ambiente, quanto às químicas, influenciam o crescimento microbiano. Fatores físicos em geral, atuam como agentes seletivos, enquanto que os fatores químicos podem ou não ser seletivos. Alguns elementos como carbono e nitrogênio, que são usualmente requeridos em quantidades relativamente grandes, podem ser muito importantes na seleção das espécies predominantes. Já micronutrientes requeridos em quantidades muito pequenas, tem pouca ou nenhuma influência seletiva. As necessidades nutricionais dos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia são estabelecidas em função da composição química das células. O nitrogênio e o fósforo são os dois elementos de maior abundância na composição da biomassa microbiana, e deles dependem a eficiência dos microrganismos para obtenção de energia para síntese (CHERNICHARO, 2007). Além destes, o enxofre também pode ser considerado um dos nutrientes essenciais à metanogênese, uma vez que é utilizado para a síntese de proteínas. Devido à dificuldade de se determinar a composição exata, os requisitos nutricionais podem ser determinados com base na composição empírica das células. Isso se baseia no fato de que as células vivas são formadas por tipos similares de compostos, as quais apresentam composições químicas similares, requerendo assim, os mesmos elementos, nas mesmas proporções. Segundo Chernicharo (2007), as bactérias metanogênicas têm em sua composição química macronutrientes e micronutrientes, que são apresentados na Tabela 3

Tabela 3 – Composição química das bactérias metanogênicas

Macronutrientes		Micronutrientes	
Elemento	Concentração (g/kg SST)	Elemento	Concentração (mg/kg SST)
Nitrogênio	65	Ferro	1.800
Fósforo	15	Níquel	100
Potássio	10	Cobalto	75
Enxofre	10	Molibdênio	60
Cálcio	4	Zinco	60
Magnésio	3	Manganês	20
		Cobre	10

Fonte: Lettinga, et al, 2004, apud Chernicharo 2007.

Dos fatores físicos que afetam o crescimento microbiano, a temperatura é um dos mais importantes na seleção das espécies. Os microrganismos não possuem meios de controlar a sua temperatura interna, deste modo a temperatura no interior da célula é determinada pela temperatura ambiente externa (CHERNICHARO, 2007). Ao crescimento microbiano, geralmente estão associadas três faixas de temperatura onde o crescimento é possível: faixa psicrófila (entre 0 e 20°C), faixa mesófila (entre 20 e 45°C) e a termófila (entre 45 e 70°C). E em cada uma dessas faixas são associados três valores de temperatura para caracterização do crescimento dos microrganismos: temperaturas máximas e mínimas que definem os limites da faixa de temperatura em que o crescimento é possível e a temperatura ótima onde o crescimento é máximo (CHERNICHARO, 2007).

O pH, alcalinidade e os ácidos voláteis são outros fatores ambientais interferentes no desempenho do processo anaeróbio, sendo que estes três fatores estão intimamente relacionados.

O pH interfere no processo anaeróbio diretamente ao afetar a atividade enzimática, e indiretamente ao afetar a toxicidade de inúmeros compostos, tais como a amônia e o sulfeto. As arqueas metanogênicas têm crescimento ótimo na faixa de pH entre 6,6 e 7,4, embora se possa conseguir estabilidade na formação de metano numa faixa mais ampla de pH, entre 6,0 e 8,0. Valores abaixo de 6,0 e acima de 8,3 devem

ser evitados, uma vez que estes podem inibir por completo as arqueas metanogênicas. O pH ótimo depende do tipo de microrganismo envolvido no processo de digestão, como também do tipo de substrato.

A alcalinidade de um sistema é a capacidade de uma solução em neutralizarem ácidos, impedindo as variações de pH quando há acréscimo da concentração de ácidos ou bases (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994). No monitoramento de reatores anaeróbios a verificação sistemática da alcalinidade torna-se mais importante do que a avaliação do pH. Isso se deve ao fato dos valores de pH variar em escala logarítmica, significando que pequenos abaixamentos de pH implicam no consumo de elevada quantidade de alcalinidade, diminuindo a capacidade de tamponamento do meio (CHERNICHARO, 2007).

As arqueas metanogênicas, quando em número suficiente e em condições ambientais favoráveis, utilizam ácidos intermediários tão rapidamente quanto estes são formados. Assim, os ácidos não se acumulam além da capacidade neutralizadora da alcalinidade naturalmente presente no meio, o pH permanece numa faixa favorável as bactérias metanogênicas e o sistema anaeróbio é considerado em equilíbrio. Porém, se as arqueas metanogênicas não estiverem presentes em número suficiente, ou se estiverem expostas às condições ambientais desfavoráveis, estas não são capazes de utilizar os ácidos voláteis na mesma faixa em que são produzidos pelas bactérias acidogênicas, resultando numa acumulação de ácidos no sistema. Nestas condições, a alcalinidade é consumida rapidamente e os ácidos livres, não neutralizados, provocam a queda do pH (CHERNICHARO, 2007).

A digestão anaeróbia é particularmente suscetível a um controle rigoroso das condições ambientais, uma vez que o processo requer uma interação dos microrganismos fermentativos e metanogênicos. Dessa forma o sucesso do processo depende do delicado balanço do sistema ecológico.

3.2.2 *Reatores anaeróbios*

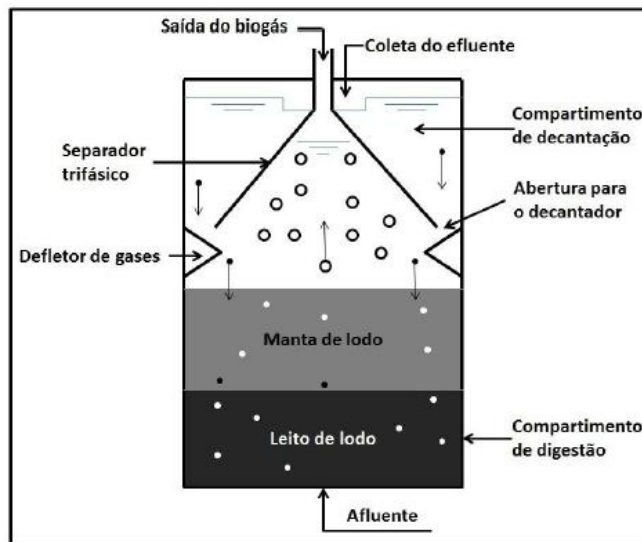
Utilizando essencialmente vias biológicas anaeróbias, a experiência do tratamento anaeróbio em esgotos domésticos é muito antiga, sendo os Tanques

Sépticos os precursores da tecnologia. Segundo Andrade Neto (1997), foi inventado, ou descoberto, em 1872, na França, quando Jean Louis Mouras percebeu que o volume de sólidos acumulado durante 12 anos em um tanque de alvenaria, que havia idealizado e construído para receber os esgotos da cozinha de sua residência antes de lançá-los na fossa absorvente, era muito menor do que ele havia imaginado.

Posteriormente, ao fim do século XIX, os Tanques Emscher ou Imhoff apresentaram melhorias estruturais na aplicação da tecnologia anaeróbia e tiveram larga utilização nos Estados Unidos e inclusive no Brasil. No final dos anos 70, surgiu na Holanda um modelo de reator anaeróbio, caracterizando-se por possuir a entrada de esgoto pelo fundo, em fluxo ascendente, com lodo suspenso e possibilitando a formação de grânulos biológicos, separando a fase sólida da líquida. Desenvolvida pela por Gatze Lettinga, recebeu o nome de UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket)-terminologia recentemente adotada por especialistas brasileiros (JORDÃO & PESSÔA, 2014).

Os reatores UASB possuem facilidades operacionais, hidrodinâmica mais eficiente que outros sistemas convencionais e boa adaptação às condições climáticas do Brasil, para diversos efluentes líquidos (BELLI FILHO et al., 2001). Conforme Passeggi et al. (2012), o reator UASB é um dos sistemas biológicos no qual o efluente é tratado na ausência de oxigênio livre, ocorrendo a formação de uma biomassa anaeróbia, denominada lodo anaeróbio. O processo consiste na mistura do sistema através do fluxo ascendente e das bolhas de gás, que são resultantes da atividade anaeróbia. A estabilização da matéria orgânica ocorre pela passagem do afluente na biomassa que cresce dispersa no meio, podendo formar pequenos grânulos, correspondente a aglutinação de diversas bactérias. Estes grânulos podem servir de meio suporte para outras bactérias, aumentando a eficiência do sistema. O funcionamento básico de um UASB pode ser verificado na Figura 4.

Figura 4 – Funcionamento de um reator UASB



Fonte: (CHERNICHARO, 2007).

O projeto de um reator UASB garante dois pré-requisitos para que ocorra uma digestão anaeróbia eficiente: a) através do escoamento ascensional do resíduo passando pela camada de lodo, assegura-se um contato intenso entre o material orgânico e o lodo; e b) o decantador interno garante a retenção da massa microbiana no reator.

Com o fluxo ascendente, a estabilização da matéria orgânica ocorre na zona de manta de lodo, não sendo necessária, a mistura do sistema, uma vez que esta é promovida pelo fluxo.

A eficiência do tratamento anaeróbio, no entanto é comprovadamente limitada. Remoções de DQO e DBO podem alcançar a ordem de 45% a 75% no máximo (JORDÃO & PESSÔA, 2014).

Para Oliva (1997) e Bezerra (1998), o sucesso de qualquer processo anaeróbio, em especial o reator UASB, depende fundamentalmente da manutenção dentro do sistema. Uma biomassa adaptada com elevada atividade microbológica e resistência a choques (pH, T). Um dos aspectos mais importantes nos reatores UASB é sua habilidade em desenvolver e manter um lodo de elevada atividade e excelentes características de sedimentação. Para que isso ocorra, diversas medidas devem ser observadas em relação ao projeto e operação do sistema.

De acordo com Chernicharo (2007), o sistema de amostragem deve constituir registros ao longo a altura do compartimento de digestão, possibilitando assim o monitoramento do crescimento e da qualidade da biomassa no reator. Uma das rotinas operacionais mais importantes nesse tipo de sistema consistem em avaliar a quantidade de biomassa presente no reator através da determinação do perfil dos sólidos e da massa de microrganismos. Esse monitoramento permite um maior controle sobre os sólidos do sistema, identificando a altura do leito de lodo no reator, possibilitando o estabelecimento de estratégias de descarte do lodo excedente.

Nos reatores UASB, o controle do fluxo ascendente é essencial, pois a mistura e retenção da biomassa adequados, permitem que o lodo permaneça em suspensão com uma mobilidade limitada em um espaço na vertical do reator. A mistura do resíduo contendo material orgânico com essa biomassa é favorecida pela agitação hidráulica promovida pelo fluxo ascensional, por efeitos de convecção térmica e do movimento permanente das bolhas de gás produzidas na digestão bacteriana. Provavelmente, o movimento ascensional das bolhas de gás seja o mais importante processo de mistura no sistema. Essa dinâmica é essencial para que o processo anaeróbio por meio desse tipo de reator se desenvolva e se mantenha com elevada atividade microbiana e ótima capacidade de sedimentação das partículas de lodo.

Existem também quesitos de dimensionamento não construtivos que tem relação direta com fatores construtivos, como geometria do reator (volume, área e altura). Pode-se mencionar a carga orgânica volumétrica (COV) carga hidráulica volumétrica (CHV) e tempo de detenção hidráulica (TDH) e a velocidade ascensional (VA).

A COV, denominada de taxa de carregamento orgânico é dada pela equação 1 abaixo:

$$\text{COV} = Q \cdot S / V \quad (1)$$

Onde:

COV: carga orgânica volumétrica (kgDQO/m³.d)

Q: vazão (m³/d)

S: concentração do substrato afluente (kgDQO/m³)

V: volume total do reator (m³)

As cargas orgânicas adotadas nos projetos de estações em escala plena é de até 15kgDQO/m³.d, tendo alcançado em alguns caso até 45kgDQO/m³.d. Tratando-se de esgoto doméstico que geralmente não ultrapassa a faixa de 1000mgDQO/L, a carga orgânica aplicada ao reator é bem inferior, cerca de 2,5 a 3,5kgDQO/m³.d.

Chernicharo (2007) define carga hidráulica volumétrica como a quantidade de esgoto aplicado diariamente ao reator, por unidade de volume do mesmo. O tempo de detenção hidráulica é o inverso da carga hidráulica e são calculados pelas equações 2 e 3.

$$\text{CHV} = \text{Q}/\text{V} \quad (2)$$

$$\text{TDH} = \text{V}/\text{Q} \quad (3)$$

Onde:

CHV: carga hidráulica volumétrica (m³/m³. d).

Q: vazão (m³/d)

V: volume total do reator (m³)

TDH: tempo de detenção hidráulica (d)

Ainda de acordo com o autor, a carga hidráulica volumétrica não deve ultrapassar o valor de 5,0m³/m³. d, que corresponde a um tempo de detenção de 4,8 horas. Valores superiores de carga hidráulica ou muito inferiores de tempo de detenção hidráulica podem prejudicar o funcionamento do sistema em relação aos seguintes aspectos: perda excessiva de biomassa; redução do tempo de residência celular, diminuindo o grau de estabilização dos sólidos; e possibilidade de falha do sistema, uma vez que o tempo de permanência da biomassa pode ser inferior ao seu tempo de crescimento.

O tempo de detenção hidráulica é um fator bastante importante nessas considerações. Segundo Huang et al. (2006) os microrganismos presentes em grandes concentrações no reator UASB, aderidos uns aos outros formam flóculos ou grânulos sedimentáveis. A retenção do lodo no interior do reator origina uma espessa camada através da qual a matéria orgânica solúvel será degradada e o material particulado adsorvido.

Segundo Lettinga e Hulshoff (1991) apud MEYSTRE, (2007), os esgotos domésticos são da categoria de efluente de baixa carga orgânica, e a aplicação do tempo de detenção hidráulico, para esse tipo de efluente, depende da temperatura. A norma brasileira ABNT NBR 12209:2011 também relaciona a temperatura média do esgoto no mês mais frio do ano para a definição do TDH para efeito de projeto.

- 6 horas para temperatura do esgoto superior a 25°C.
- 7 horas para temperatura do esgoto entre 22°C e 25°C.
- 8 horas para temperatura do esgoto entre 18°C e 21°C.
- 10 horas para temperatura do esgoto entre 15°C e 17°C.

Para a determinação da velocidade ascensional (VA) utiliza-se a relação entre a vazão afluyente e a seção transversal do reator:

$$VA = Q.H/V \quad (4)$$

Onde:

VA: velocidade ascendente do fluxo, ou velocidade ascensional (m/h).

Q: vazão (m³/h)

V: volume total do reator (m³)

H: altura do reator (m)

Conforme Lettinga e Hulshoff (1991) apud MEYSTRE, (2007), para lodos com volume floculento a máxima velocidade ascensional admissível é de 0,5 m/h, com picos temporários de até 4,0 m/h. A velocidade ascensional apresentou-se como um importante fator interveniente no desempenho do processo, velocidades inferiores a 1m/h, favoreceram o desempenho da unidade, provavelmente devido a uma maior adsorção e captura de sólidos afluentes na própria manta de lodo.

3.2.3 Esgotos domésticos

O tipo de esgoto a ser tratado também constitui um fator determinante para o adequado funcionamento de uma estrutura de tratamento. A palavra esgoto costumava ser usada para definir tanto a tubulação condutora das águas servidas, como também o próprio líquido que flui por estas estruturas. Atualmente este termo é usado quase que

apenas para caracterizar os despejos provenientes das diversas modalidades de uso da água. Os esgotos costumam ser classificados em dois grupos principais: os sanitários e os industriais. Os primeiros são constituídos essencialmente de despejos domésticos. Esgoto sanitário, de acordo com a ABNT – NBR 7229/97, esgoto sanitário vem a ser água residuária composta de esgoto doméstico, despejo industrial admissível ao tratamento conjunto com o esgoto doméstico e a água de infiltração. Os esgotos domésticos são provenientes principalmente de residências, edifícios comerciais, instituições ou edificações que possuam instalações geradoras desse efluente. São constituídos basicamente da água de banho, urina, fezes, papel, restos de comida, produtos de limpeza e águas de lavagem (JORDÃO & PESSÔA, 2014). Já os esgotos industriais são extremamente diversos e provém de qualquer utilização da água para fins industriais, e adquirem características próprias em função do processo industrial empregado.

Por isso a definição de alguns parâmetros de qualidade para caracterização e controle dos efluentes, constitui uma das principais ferramentas para a gestão do tratamento de efluentes. Segundo Jordão & Pessôa (2014), esses parâmetros são grandezas que indicam as características dos efluentes ou dos corpos d'água. Para o tratamento de esgotos, os parâmetros de qualidade de interesse, são aqueles relacionados às exigências legais, e às necessidades de projeto, operação e avaliação do desempenho da ETE (JORDÃO & PESSÔA, 2014).

Específico aos esgotos domésticos, Metcalf e Eddy (2015) afirmam que os avanços tecnológicos têm contribuído com a alteração das características dos esgotos, proporcionaram à inserção de compostos de difícil degradação, vários desses, raramente são tratados e removidos por processos convencionais. Assim para atuar na prevenção da poluição, é necessário avaliar os impactos de qualquer novo composto e verificar se este pode ser tratado de forma eficaz com a tecnologia existente, isso indicará se ele poderá ser utilizado ou não. Portanto caracterizar os esgotos e identificar os diversos poluentes presentes é fundamental para avaliar a eficiência dos sistemas e realizar estudos relacionados a métodos de tratamento que possibilitem a remoção desses contaminantes. Segundo Jordão & Pessôa (2014), a característica física mais relevante dos esgotos é o teor de matéria sólida, ainda que represente apenas 0,08%

do efluente. Dessa forma a concentração de sólidos deve ser considerada no dimensionamento e controle de operações das unidades de tratamento. Além da característica física apresentada, a fração restante dos esgotos, 99,92%, é constituída por água.

Para Mackenzie (2010) algumas das principais características físicas do esgoto doméstico fresco é o odor semelhante ao de querosene, ou terra recém-revolvida, e coloração cinza. O lodo de esgoto séptico possui odor característico de ovo podre, resultante do sulfeto de hidrogênio e mercaptanas, e coloração preta.

As características químicas do esgoto, constituída pelos compostos químicos presentes no esgoto sanitário, é quase ilimitada, logo, as análises mais utilizadas na caracterização química são a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO₅) e a Demanda Química de Oxigênio (DQO).

Jordão & Pessôa (2014), apresentam na Tabela 4, os valores típicos de parâmetros de carga orgânica presentes no esgoto doméstico:

Tabela 4: Características típicas dos esgotos

Parâmetro	Esgoto forte	Esgoto médio	Esgoto fraco
DQO	800	400	200
DBO 5	400	200	100
Nitrogênio Total	85	40	20
Nitrogênio Orgânico	35	20	10
Amônia livre	50	20	10
Nitrito, NO ₂	0,10	0,05	0
Nitratos, NO ₃	0,40	0,20	0,10
Fósforo Total	20	10	5
Fósforo Orgânico	7	4	2
Fósforo Inorgânico	13	6	3

Fonte: Adaptado de Jordão & Pessôa (2014).

As características dos esgotos sanitários variam no espaço, em função de diversas variáveis desde o clima até hábitos culturais, o que torna complexa sua caracterização (METCALF & EDDY 2015). No experimento objeto deste trabalho, foram elencados alguns parâmetros, considerando à sua importância para a operacionalidade do sistema proposto, conforme segue:

- O pH é definido como o logaritmo negativo da concentração de íon hidrogênio. Configura um parâmetro importante no controle operacional das ETE, essencialmente na digestão anaeróbia, pois é condicionante para a atividade biológica. Estabelecido dentro de uma faixa de 0 a 14, indica a acidez, neutralidade ou basicidade do líquido.

- Nutrientes são basicamente Nitrogênio e Fósforo. O primeiro está presente nos esgotos sob a forma de nitrogênio orgânico, amônia, nitrito, nitrato ou gás nitrogênio, já o Fósforo é encontrado nos efluentes como ortofosfato, polifosfato e fósforo orgânico. Ambos, exercem papel importante no tratamento de esgotos, pois é necessário para o desenvolvimento dos microrganismos envolvidos no tratamento. Entretanto se lançado em quantidades excessivas nos corpos hídricos, podem causar a eutrofização.

- Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO_5) é a forma mais utilizada para medir a quantidade de matéria orgânica presente no esgoto. Estabelece a quantidade de oxigênio necessária para estabilizar biologicamente a parte orgânica existente na amostra em 5 dias a 20°C. É importante para definição de grau de poluição de uma água residuária, dimensionamentos de ETE e sua eficiência.

- Demanda Química de Oxigênio (DQO) corresponde a quantidade de oxigênio necessária para oxidar a fração orgânica da amostra, pela via química (permanganato ou dicromato de potássio). Uma das grandes vantagens para DBO_5 é a rapidez na obtenção dos resultados que é de 2 horas. É bastante aplicável para efluentes industriais que apresentam quantidades representativas de compostos menos facilmente biodegradáveis.

- Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) tecnicamente é a parcela sólida que volatiliza no ensaio laboratorial, a 600°C em forno. Apesar de representarem pequeno percentual dentro do volume de esgoto, são muito importantes para o processo de tratamento, pois representam parte do substrato necessário para o desenvolvimento

microbiano, ou mesmo a própria massa de microrganismos, determinada por esta análise. Respondem também por boa parcela da capacidade poluidora do efluente doméstico.

- Temperatura repercute diretamente nas operações de natureza biológica, acelerando a atividade microbiana. Outro aspecto importante está relacionado à viscosidade de líquido, que diminui à medida que eleva-se a temperatura, melhorando o fenômeno da sedimentação.

- Coliformes Termotolerantes – existem vários organismos cuja presença num corpo hídrico, indica uma forma qualquer de poluição. Porém para indicar poluição fecal e para medir a extensão desta contaminação, este é o indicador mais largamente usado.

3.3 Legislação

Além da importância operacional, os parâmetros de qualidade são efetivamente exigidos nos mais diversos dispositivos ou ferramentas legais. O Brasil dispõe de um conjunto extenso de normas legais que norteiam as questões ambientais e ocupam um capítulo importante as que dizem respeito aos corpos hídricos e efluentes.

Na esfera nacional, pode-se mencionar a Resolução CONAMA 357 de 2005 que versa sobre a classificação dos corpos hídricos, bem como padrões de lançamentos de efluentes. Posteriormente a resolução CONAMA 430 de 2011, veio complementar alguns aspectos da primeira resolução citada. No âmbito estadual, o Rio Grande do Sul se baseia essencialmente, pela Resolução Consema 128 de 2006 para o lançamento de efluentes em corpos hídricos superficiais.

Para o tema biorremediadores, o Brasil dispõe de legislação específica para seu uso, expedida pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente CONAMA. Trata-se de RESOLUÇÃO Nº 463, DE 29 de julho de 2014 que dispõe sobre o controle ambiental de produtos destinados à remediação. Considera os benefícios que podem advir da utilização adequada de remediadores na recuperação de ecossistemas contaminados e no tratamento de resíduos e efluentes, porém pondera que, em função de suas peculiaridades ou de um uso inadequado, os remediadores podem acarretar desequilíbrio no ecossistema e danos ao meio ambiente. Abrange o controle ambiental

de remediadores para fins de produção, importação, exportação, comercialização e utilização. Prevê em seu conteúdo que a comercialização e o uso de remediadores dependem de prévio registro junto ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, que estabelecerá os requisitos e os procedimentos para a aplicação desta Resolução, que também depende de prévia autorização do órgão ambiental competente.

Os biorremediadores, remediadores químicos e físico-químicos deverão exibir rótulos, contendo instruções e restrições de uso ao produto, para serem vendidos ou expostos à venda e as informações aportadas no processo de registro de remediadores devem ser mantidas atualizadas e são de responsabilidade do registrante durante o processo e do titular do registro após a emissão deste. Uma vez verificada qualquer irregularidade quanto às exigências desta legislação, acarretará no cancelamento do registro.

Complementarmente a Resolução CONAMA 463, existe a Instrução Normativa nº 5 do IBAMA, que estabelece os procedimentos e as exigências a serem adotados para efeito de registro, renovação de registro e anuência prévia para a realização de pesquisa e experimentação com produtos remediadores.

O estado do Rio Grande do Sul ainda não dispõe de legislação própria para a questão dos biorremediadores.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Este capítulo aborda os materiais usados no experimento e detalha as metodologias adotadas para o desenvolvimento do trabalho.

4.1 Materiais

Para se alcançar os objetivos propostos, o experimento em escala piloto foi todo executado nas dependências da empresa Millenium Tecnologia Ambiental Ltda, na cidade de Porto Alegre, bem como as análises de monitoramento.

Para a construção do sistema de tratamento foram usados os seguintes materiais: duas bombonas de polietileno de alta densidade (PEAD) com volume útil de 200 litros, interligadas em série por um tubo de policloreto de polivinila (PVC) de 20 mm, obedecendo aos princípios dos vasos comunicantes. Esses recipientes tiveram a função de ser utilizados como reservatórios de esgoto bruto, para a alimentação em fluxo contínuo dos protótipos UASB. A Figura 5 mostra a formatação final do sistema do reservatório.

Figura 5 – Reservatórios de esgoto bruto



Fonte: Autoria própria, 2016

Além dos itens mencionados, os reservatórios de esgoto bruto foram dotados de abertura na parte superior, possibilitando o seu abastecimento. Para os condutos do efluente bruto até os reatores, usou-se mangueiras de silicone de 5,0 mm de diâmetro

externo, já para o controle de vazão foram instalados registros de saída (torneira de jardim) e dois controladores de gotas usados largamente na área hospitalar. Na própria tubulação de saída, antes da redução de diâmetro para a alimentação dos reatores, foi adaptado um filtro plástico, comum em máquinas de lavar, atuando como tratamento preliminar.

Para os protótipos de reator UASB, foram usados dois recipientes de policloreto de polivinila (PVC) com tampa vedável à pressão e capacidade útil de 20 litros cada. Tubo de PVC com 24 cm de comprimento e diâmetro nominal de 20 mm, conectado em um flange rosqueável de PVC na extremidade superior, foram inseridos no centro da tampa, voltado para o interior do balde. Também foi dotada na extremidade inferior de um tampão de PVC, tipo cap, perfurado lateralmente com 5 tubos de silicone adjacentes com 10 mm de diâmetro nominal, como se mostra na Figura 6.

Figura 6 – Distribuidor de fundo do protótipo de reator anaeróbio



Fonte: Autoria própria, 2015

Ainda na tampa, ao lado do tubo de alimentação, foi instalado um tubo de PVC de 20 mm para o escapamento de gases produzidos durante a digestão anaeróbia. Tubos e registros tipo borboleta com esfera, ambos em PVC foram adaptados com flange rosqueável, em três alturas distintas, na lateral do reator, demonstrados na Figura 7.

Figura 7 – Protótipo de reator anaeróbio



Fonte: Autoria própria, 2015

Também na lateral, porém no extremo superior de cada reator, foi instalada a tubulação de saída coleta do afluente para posterior lançamento final conforme apresentado na Figura 8.

Figura 8 – Saída do protótipo de reator anaeróbio

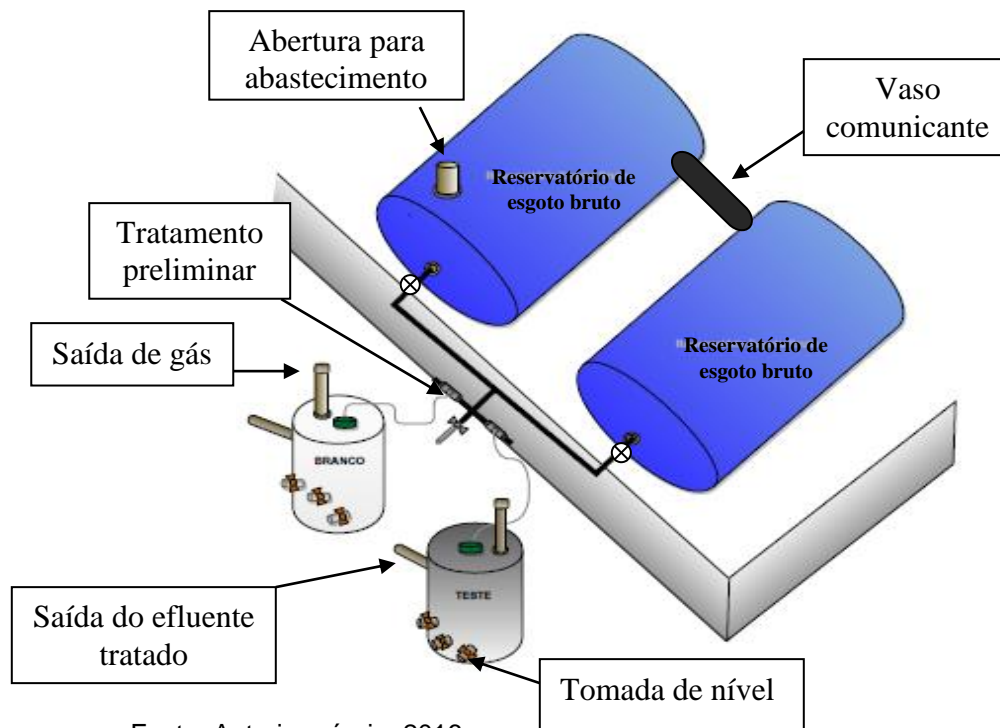


Fonte: Autoria própria, 2015

Cabe ressaltar que a Figura 8 demonstra o módulo protótipo previamente ao início do teste, o que ocorreu em local coberto e sem a influência de luz solar.

A Figura 9, aborda graficamente todo o sistema de tratamento desenvolvido para o trabalho e aponta as principais estruturas.

Figura 9: Esquema do experimento



Fonte: Autoria própria, 2016.

O efluente bruto usado no experimento é oriundo de um condomínio vertical habitacional com localizado em Porto Alegre. O empreendimento em questão é constituído de cinco torres residenciais com 1020 apartamentos, população fixa atual é de aproximadamente 4600 pessoas. Dispõe de cinco estações de tratamento de esgotos compactas próprias, destinadas a tratar todos os efluentes cloacais produzidos no condomínio. Foram recolhidos ao todo 5200 litros de efluente bruto, armazenados em baldes de 20 litros e transportados por veículo devidamente licenciado até o local do experimento. A caracterização do efluente bruto realizada no início do experimento, apresentou os resultados descritos na Tabela 5:

Tabela 5: Características dos esgotos

Parâmetro	Resultado
pH	7,2
DBO ₅ (mg/l)	321
DQO (mg/l)	740
Sólidos Suspensos Voláteis (mg/l)	246
Nitrogênio Total (mg/l)	87,0
Fósforo Total (mg/l)	23,70
Coliformes Termotolerantes (UFC/ 100ml)	9,8x10 ⁶

Fonte: Aatoria própria, 2016

Para a bioaugmentação foi utilizado no total uma massa de 19 g do produto comercial Enzilimp®, disponibilizado pela empresa Millenium Tecnologia Ambiental Ltda, localizada na cidade de Porto Alegre, Estado do Rio Grande do Sul. O bioaditivo é formado por cepas de bactérias *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*, em uma concentração superior a 1,5x10⁸ unidades formadoras de colônias (UFC) por grama, como estabilizante o cloreto de sódio em uma massa de 0,19 g e farelo de cereais para completar um grama, conforme tabela 6 abaixo:

Tabela 6- Composição básica do bioaditivo Enzilimp

Ingrediente nome químico	CAS- nº	Concentração	Função na fórmula	Classificação de perigo
Bacillus subtilis	68038-70-0	≥1,5 x 10 ⁸ UFC/g	Princípio ativo	Não perigoso
Bacillus licheniformis	68038-66-4			
Cloreto de Sódio	7647-14-5	19%	Estabilizante	Não perigoso
Farelo de trigo	116469-86-4	79%	Veículo	Não perigoso

Fonte: Adaptado de Millenium Tecnologia Ambiental Ltda, 2016

Este produto é comercializado em pó, cor marrom claro e odor semelhante a um fermento de levedura, conforme a Figura 9. Dispersos em farelo de cereais, os

microrganismos ficam em estado vegetativo, sendo o dispositivo ativado em água (25 a 35°C). A Figura 10 ilustra as características físicas do produto.

Figura 10 – Bioaditivo em pó



Fonte: Aatoria própria, 2016.

Sua estabilidade, quando armazenado conforme recomendado, prevê uma perda máxima de 1,0 log/ano - log de microrganismos das cepas informadas por ano. As cepas selecionadas foram submetidas a testes minuciosos no Brasil e no exterior, sendo aprovadas pelo Departamento de Agricultura dos EUA (USDA) e pelos Ministérios da Agricultura e Saúde do Brasil. O produto Enzilimp® é registrado e certificado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (Millenium Tecnologia Ambiental, 2016; IBAMA, 2016 e ANVISA, 2016). Esta informação foi fornecida pela empresa fornecedora do bioaditivo.

Para o monitoramento analítico, os ensaios foram realizados por profissionais da empresa Millenium em Porto Alegre, que conta com toda a infraestrutura para a execução de análises laboratoriais estabelecidas para este experimento. A Figura 11 apresenta parte do laboratório onde foram realizadas as análises.

Figura 11 – Laboratório de análises



Fonte: Aatoria própria, 2016

4.2 Métodos

O experimento teve início em agosto de 2015 com a construção do sistema de tratamento em escala piloto. Com o uso dos materiais citados anteriormente, buscou-se simular em escala piloto, um sistema de tratamento de esgotos, contando com reservatórios de esgoto bruto, controladores de vazão, e os protótipos de reatores UASB. As duas bombonas de 200 litros usadas como reservatórios de esgoto bruto, foram dispostas interligadas, visando a garantia do abastecimento contínuo dos reatores e otimização da logística de transporte dos esgotos brutos em seu local de origem. Dispostos em um local mais elevado do que as demais estruturas do sistema de tratamento, os reservatórios de esgoto bruto eram conduzidos por força hidráulica, conduzindo o efluente para o interior dos dois reatores, alimentando-os em paralelo e forma contínua.

Logo após a saída dos reservatórios, foi instalado um filtro, atuando como etapa preliminar de tratamento, conhecido em estações de tratamento de esgoto como gradeamento ou peneira. Essa medida visa remoção de sólidos mais grosseiros que podem obstruir o fluxo de abastecimento das estruturas.

Devido a reduzida vazão de operação, utilizou-se como conduto de alimentação dos UASB piloto, materiais normalmente usados na área médica para aplicação de medicamentos intravenosos, segundo o fabricante, tem boa estabilidade a temperaturas extremas na faixa de -20°C a 200°C , possui superfície lisa e antiaderente, considerados requisitos fundamentais para a operacionalidade do sistema.

O protótipo de reator anaeróbio (UASB), foi idealizado e concebido especificamente para este estudo e tiveram seus aspectos construtivos e funcionais, baseados em referenciais de diversos autores mencionados neste estudo. Dessa forma o fluxo ascendente foi estabelecido com o abastecimento pela parte superior e descarga ao fundo do reator, contando com a distribuição do esgoto bruto através de pequenas tubulações, primando pelo máximo aproveitamento da área do reator.

Foram previstos tubos na parte superior para escapamento dos gases gerados, bem como tomadas em níveis distintos para descarte ou mesmo avaliações das

características do lodo gerado no interior da estrutura de tratamento. Saída do efluente tratado foi estabelecida também na parte superior, porém instalada na lateral do reator.

A vazão de operação foi definida considerando as dimensões do reator concebido e as referências bibliográficas para os tempos de detenção hidráulica (TDH) e de velocidade ascensional de fluxo (VA), que poderiam ser condicionadas neste experimento. Pelo volume e dimensões dos reatores protótipo, arbitrou-se a vazão de operação em 0,93 ml/s, garantindo valores adequados ao sugerido para operação em escala real. Desta forma a operação dos reatores ocorreu com o TDH de 6 horas com uma VA de 0,07 m/h. Para a velocidade ascensional foram observados os aspectos dimensionais do reator, já para o tempo de detenção hidráulica, além das dimensões, considerou-se a temperatura média do efluente esperada para o período de operação, superior a 25°C. O parâmetro carga hidráulica volumétrica também foi atendido na sua totalidade, conforme referências de literatura, ficando muito abaixo dos 5m³/m³ sugeridos. Já para a definição dos limitantes da COV a ser aplicada, utilizou-se as características básicas do esgoto doméstico encontrada na literatura técnica, satisfazendo plenamente aos requisitos sugeridos no dimensionamento, com 1,6kg/DQO/m³. Com a caracterização prévia do esgoto bruto, pode-se confirmar a inferência feita para este parâmetro.

Na escala de tempo para o desenvolvimento deste trabalho, no período de 04 de janeiro a 03 de março de 2016, foi realizada a ambientação de operação do sistema. Em esta etapa se contemplou o acompanhamento operacional assistido, a definição de dosagem e aplicação do inóculo e os monitoramentos analíticos. A operação ocorre desde o enchimento dos reservatórios, observação e intervenções funcionais, até a saída do efluente tratado.

Para o abastecimento do sistema, o efluente bruto transportado, era transferido para o primeiro reservatório de esgoto da série. O esgoto doméstico destinado ao estudo, foi coletado no ponto após o gradeamento da ETE e sempre na mesma torre, escolhida de maneira aleatória. A continuidade da realização de coletas no mesmo local durante todo o experimento visa diminuir a possibilidade de variações bruscas na característica dos efluentes. O transporte era realizado de duas a três vezes na semana,

objetivando a continuidade de alimentação dos reatores. A Figura 12 ilustra o momento de umas das coletas realizadas.

Figura 12 – Coleta do efluente bruto



Fonte: A autoria própria, 2016

Durante a operação, foram previstas e executadas intervenções de limpeza dos filtros preliminares e observações do funcionamento do sistema, com frequência diária. Para aferição da vazão foi utilizado um controlador de gotas, usado na área hospitalar. Dada a importância operacional deste quesito e a repercussão em diversos parâmetros de dimensionamento, a medição de vazão foi realizada pelo menos em duas oportunidades no dia.

A determinação do quantitativo de bioaditivo a ser administrado foi definido antes do início do enchimento dos reatores. Devido à complexidade das muitas variáveis que interagem nos sistemas, não existe uma modelagem matemática segura para determinar a quantidade exata de produto a ser usado. Conforme o catálogo técnico fornecido pelo fabricante ENZILIMP SN contém uma combinação de micro-organismos selecionados para degradar a fração de matéria orgânica, os acúmulos de gorduras, óleos e graxas de origem animal e vegetal, combatendo também bactérias patogênicas. É um tratamento biológico avançado, projetado para degradar resíduos de estações de tratamento de esgotos sanitários. Dessa forma se usou como base na primeira aplicação as características do esgoto doméstico explicitadas nos resultados obtidos

previamente na caracterização do efluente bruto. Vislumbrou-se à sua proporção para escala real, segundo o conhecimento de campo dos técnicos da própria empresa Millenium.

Foi aplicado no primeiro dia de operação 3g do bioaditivo, a título de inóculo, juntamente com os primeiros volumes de esgoto bruto no reator teste. Posteriormente foram administradas aplicações de 1g de bioaditivo duas vezes na semana, enquanto o Reator Branco (referência) foi abastecido somente com o esgoto bruto.

O princípio ativo é uma mistura concentrada de microrganismos na forma de esporos que é ativado com água como já mencionado na metodologia. O produto, originalmente em pó, foi previamente ativado com água, isenta de cloro, para evitar a influência biocida do cloro, a uma temperatura de 25°C, e aplicado diretamente no reator.

Com o pleno funcionamento do sistema de tratamento piloto, pode-se partir para a etapa dos ensaios analíticos, possibilitando o comparativo das eficiências de tratamento para dois protótipos de reator anaeróbio, operando em paralelo e em idênticas condições hidráulicas.

O plano de monitoramento foi definido a partir da importância ambiental de parâmetros básicos de qualidade para os efluentes tratados e sua frequência, racionalmente estabelecida para um acompanhamento adequado do experimento, conforme a Tabela 6.

Tabela 6 – Plano de monitoramento analítico

Parâmetro	Método	Frequência	Ponto de coleta
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	SMWW - 22 ^a ed. Método 5220-B	Semanal	Afluente/Efluente
Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO5)	SMWW - 22 ^a ed. Método 5210 B	Semanal	Afluente/Efluente
Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)	SMWW - 22 ^a ed. Método 2540 E	Semanal	Afluente/Efluente/ Reator Branco/Teste
Potencial Hidrogeniônico (pH)	SMWW - 22 ^a ed. Método 4500-B	Diário	Afluente/Efluente
Nitrogênio Total	SMWW - 22 ^a ed. Método 4500 C	Semanal	Afluente/Efluente
Coliforme Termotolerantes	SMWW - 22 ^a ed. Método 9221 B	Semanal	Afluente/Efluente
Fósforo Total	SMWW-22 ^a ed. Método-4500 E	Semanal	Afluente/Efluente
Temperatura média interna	-	3 x dia	Reator Branco/Teste
Temperatura média do ambiente	-	3 x dia	Ambiente externo

Fonte: Autoria própria, 2015

O monitoramento consiste em ensaios laboratoriais de parâmetros físico-químicos e biológicos, com os procedimentos descritos no Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (American Public Health Association, 2012). Excetuam-se apenas as medições de temperatura, que não seguiram esta norma.

Para o parâmetro temperatura do ambiente, foram realizadas 3 medições ao dia (as 8 horas, as 13 horas e 30 minutos e finalmente as 17 horas), gerando uma média aritmética do valor de temperatura ao final do período. Optou-se por não medir a temperatura da amostra do efluente tratado, devido ao tempo levado para obtenção de alíquotas que não teriam valor real para avaliação do experimento. Dessa maneira a temperatura do esgoto foi acompanhada no interior de cada reator.

A realização de coletas do efluente bruto, indicado com afluente, ocorreu na saída do reservatório de esgoto. Para o efluente a coleta de amostras foi efetuada na saída do reator. Principalmente pelo impacto de retiradas de alíquotas representativas para o sistema, optou-se pela amostragem do tipo composta. Dessa forma as parcelas de esgoto foram captadas durante o período da manhã, sendo encaminhadas para o laboratório na parte da tarde, de acordo com a frequência prevista no plano de monitoramento.

Todas as amostras foram coletadas pelo autor do trabalho. Os frascos foram identificados com numeração aleatória, e entregues ao setor de expedição do laboratório, junto a outras análises, sem nenhuma descrição, respeitando apenas os protocolos de qualidade da empresa.

De posse dos resultados, os dados foram tabulados e submetidos ao cálculo de eficiência de remoção, utilizando a equação 5.

$$E = Ra - Re / Re \cdot 100 \quad (5)$$

Onde:

E: Eficiência de tratamento (%)

Ra: Resultado afluente

Re: Resultado efluente

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em virtude dos custos para a realização do estudo em escala real, optou-se por executar a pesquisa em escala reduzida, através de um protótipo de reator anaeróbio. Esta opção ofereceu como vantagem um maior controle das condições operacionais e, sobretudo das características do efluente bruto usado na alimentação do sistema, que seria dificultado na outra possibilidade mencionada.

Não foram encontradas maiores dificuldade operacionais no sistema proposto, porém intervenções pontuais de limpeza do filtro instalado na tubulação de alimentação dos reatores e a observação do funcionamento foram realizadas rotineiramente, garantindo o fluxo hidráulico desejado com vazão constante. Os dispositivos de operação construídos respeitaram os requisitos básicos para a plena operação de um

UASB. Salienta-se o fluxo ascensional, que obriga a passagem do efluente bruto pelo manto de lodo, depositado na parte inferior do reator, retendo os sólidos em função da gravidade e por impedimentos físicos do lodo. Já os distribuidores de fundo estabelecem um adequado aproveitamento da área de tratamento construída, equalizando a distribuição na biomassa existente no reator. Ambos dispositivos são facilitadores da desejável dinâmica biológica potencializada pela movimentação hidráulica do meio, favorecendo o desenvolvimento de grânulos biológicos. As tomadas dispostas em níveis distintos possibilitam o acompanhamento e a avaliação da formação de biomassa no interior do reator ou mesmo o descarte do lodo excedente. A coleta na parte de cima do reator, que capta o efluente que passou pelo manto de lodo e sofreu a ação física e biológica, conferiu boa condição ao efluente considerado tratado. Mesmo num complexo cenário, os protótipos demonstraram boa operacionalidade no decorrer do trabalho, sem registros de interrupções no fluxo hidráulico de alimentação, sendo atendidos de forma fidedigna os parâmetros de projeto concebidos (TDH, COV e CHV).

O monitoramento do esgoto bruto foi realizado com intuito primordial de estabelecer a relação de eficiência com o esgoto tratado, entretanto a sua caracterização previa teve importância no estudo para evidenciar e garantir o atendimento às taxas de aplicação orgânica e sua origem essencialmente doméstica.

A Tabela 7 apresenta os resultados do efluente bruto, que são compatíveis com o esperado para os esgotos de origem doméstica e podem ser considerados médios, segundo os autores Jordão e Pessoa mencionados do referencial teórico.

Tabela 7 - Caracterização Efluente Bruto

Parâmetro	1	2	3	4	5	6	7	8
pH	7,2	7,0	7,1	7,1	7,1	7,0	7,0	7,0
DBO ₅ (mg/l)	280	265	278	298	319	246	277	292
DQO (mg/l)	700	662	639	835	861	542	609	818
Sólidos Suspensos Voláteis (mg/l)	186	197	182	222	238	199	189	195
Nitrogênio Total (mg/l)	84,0	79,4	83,1	100,2	129,2	54,2	79,2	98,2
Fósforo Total (mg/l)	17,50	16,55	15,98	20,88	21,53	13,55	15,23	20,45
Coliformes Termotolerantes (UFC/ 100ml)	9,3x10 ⁶	1,3x10 ⁵	9,9x10 ⁵	2,3x10 ⁶	1,6x10 ⁹	1,9x10 ⁷	1,8x10 ⁷	1,1x10 ⁶

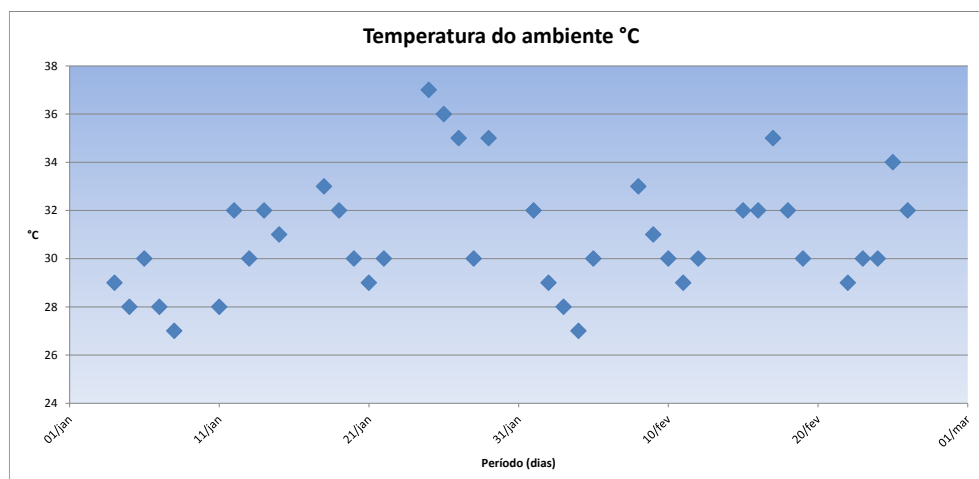
Fonte: Autoria própria, 2016

A partir da operação assistida do sistema de tratamento proposto, da aplicação controlada do bioaditivo estudado e a realização dos ensaios laboratoriais, partiu-se para a tabulação dos resultados e avaliação do desempenho dos reatores.

Considerada um dos fatores fundamentais para a atividade biológicas, foi realizado o monitoramento da temperatura média do ar do ambiente e a interna de cada reator, conforme os gráficos das Figuras 13 e 14.

Como o experimento ocorreu no período de verão, verificou-se naturalmente, temperaturas elevadas do ar no ambiente do entorno das instalações. Com médias não inferiores a 27°C, o período registrou em 72% das oportunidades temperaturas na faixa dos 30°C.

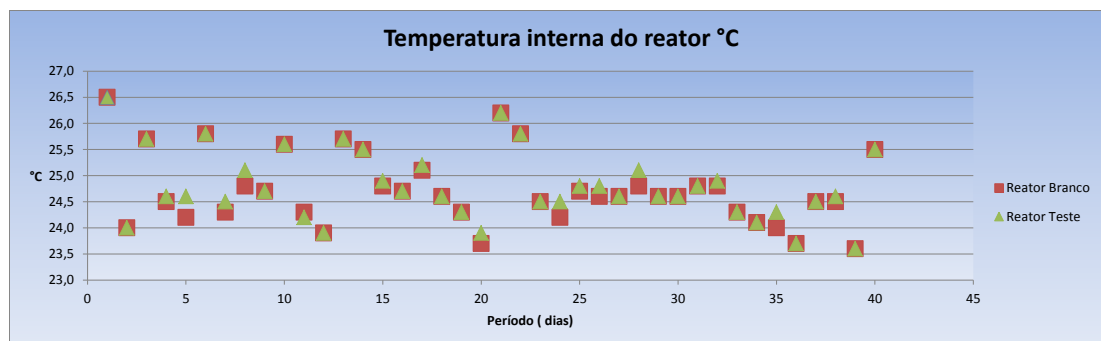
Figura 13 – Temperatura média ar ambiente



Fonte: Autoria própria, 2016

Paralelamente mediu-se a temperatura interna de cada reator utilizado no experimento, objetivando verificar as condições operacionais relativas a este importante quesito. Como o objetivo é observar as condições da atividade microbiana, não houve preocupação com padrões legais de lançamento. Mesmo estando em condições exatamente iguais, as temperaturas verificadas no reator teste foram superiores às do reator referência em 35% das vezes e em apenas uma oportunidade ficou abaixo. Pode-se atribuir o fato ao processo de bioaumentação em que o Reator Teste é submetido, pois é de conhecimento que a atividade biológica mais intensa libera energia na forma de calor, e que este acaba por aumentar levemente a temperatura do esgoto. Os comparativos podem ser observados na Figura 14.

Figura 14 – Temperatura interna do reator °C

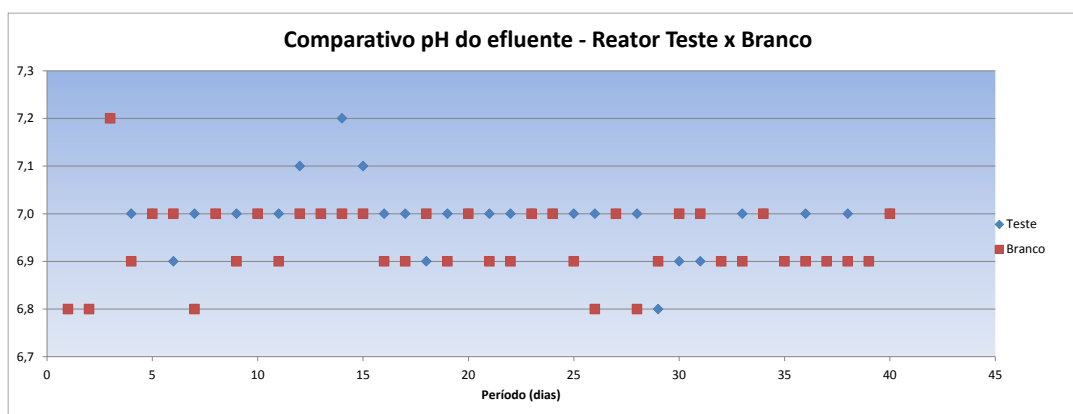


Fonte: Autoria própria, 2016

Outro parâmetro importante para as reações bioquímicas no processo de tratamento de efluentes é o valor do pH. Para este padrão, monitorou-se diariamente o efluente bruto, chamado neste estudo como afluente, e o efluente considerado o tratado de cada reator.

Observou-se pequena variação de pH durante o período avaliado, mas sempre compatível com a faixa esperada para um esgoto de origem doméstica. Em 42% das medições o reator teste apresentou valores para pH menores do que o Reator Branco. Esta diferença pode ser atribuída à aceleração dos processos biológicos da digestão anaeróbia, proporcionada pela aplicação do bioaditivo, verificada já no quarto dia de operação. A Figura 15 aborda o comparativo para o parâmetro pH.

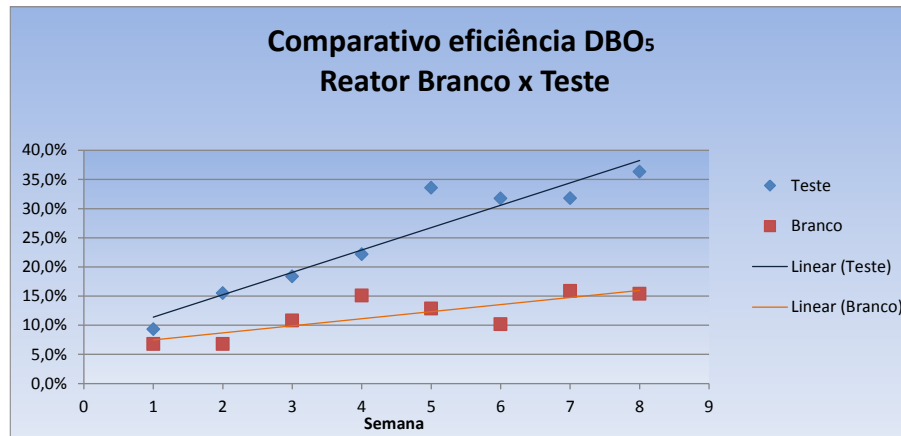
Figura 15 – Comparativo pH do efluente - Reator Teste x Branco



Fonte: Autoria própria, 2016

Considerado um importante parâmetro de dimensionamento de ETE, mas, sobretudo de eficiência do processo de tratamento, a demanda bioquímica de oxigênio, foi monitorada ao final de cada semana de operação, conforme demonstrado na Figura 16.

Figura 16 – Comparativo eficiência DBO₅ - Reator referência x Teste



Fonte: Autoria própria, 2016

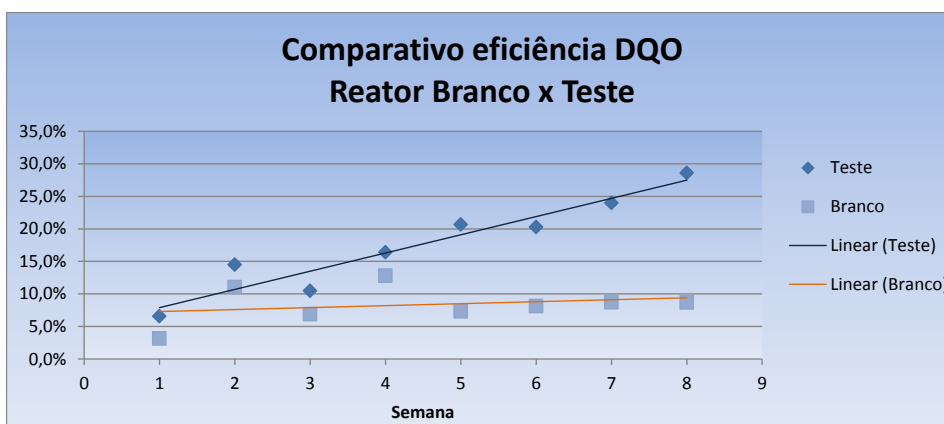
Na operação de reatores anaeróbios, além da ação biológica, um dos fatores que podem influenciar positivamente na eficiência é a retenção de sólidos. Em função da estrutura civil disponibilizada e da condição de hidráulica de alimentação do sistema, o referido fator pode ser potencializado e assim auferir bons resultados no tratamento do efluente, principalmente ao início da operação. Porém esta condição será facilmente desfeita quando do acúmulo de sólidos, saturação do volume útil do reator e essencialmente a não formação de grânulos biológicos. Neste cenário é comum registrar-se queda ou mesmo eficiência negativa, devido ao iminente arraste de sólidos para o efluente tratado.

Como o processo biológico em condições anaeróbias é relativamente lento, pode-se atribuir parte da eficiência aos quesitos apresentados. Entretanto, mesmo operando em condições hidráulicas e orgânicas idênticas, o rendimento do reator teste foi superior ao reator referência em todas as oportunidades. A linha de tendência linear explicita um crescimento pronunciado e contínuo do reator teste durante todas as semanas monitoradas, alcançando uma diferença de 20,9 pontos percentuais a mais do que o reator referência. Pelas evidências, pode-se creditar à inserção dos microrganismos contidos no bioaditivo aos elevados percentuais obtidos para DBO₅, tanto pela degradação biológica da matéria orgânica disponível como também pela melhor formação de biomassa.

Para o parâmetro DQO, o reator teste também apresentou melhores resultados do que o Branco durante todo o período monitorado.

Apesar de registrar percentuais de eficiência inferiores aos observados para DBO5, o comparativo entre os reatores manteve-se alto, chegando a 19,9 pontos percentuais a mais para o reator que recebeu o bioaditivo, conforme gráfico da Figura 17.

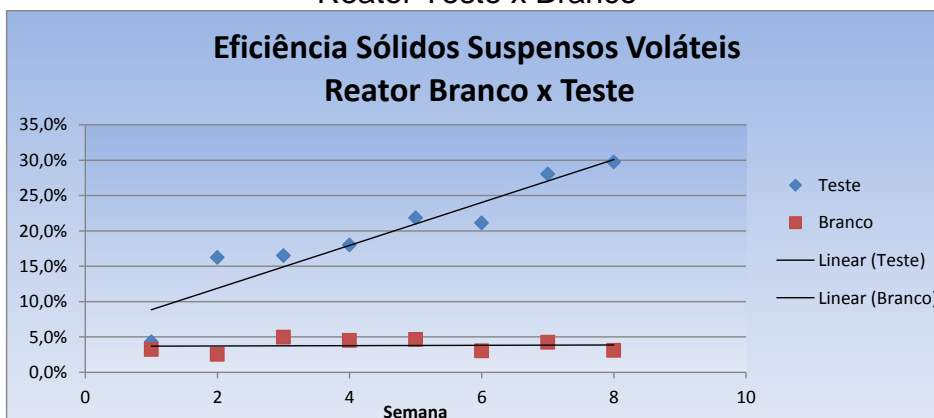
Figura 17 - Eficiência DQO - Reator Teste x Branco



Fonte: Autoria própria, 2016

Para o parâmetro Sólidos Suspensos Voláteis as avaliações efetuadas no efluente tratado, demonstraram que o reator Teste teve rendimento muito superior ao Reator Branco. Apresentando-se com crescimento linear contínuo no decorrer de todas as semanas de monitoramento, este padrão alcançou índices de eficiência próximos aos 30% de remoção para o Reator Teste, demonstrado na Figura 18.

Figura 18 - Eficiência Sólidos Suspensos Voláteis efluente tratado Reator Teste x Branco



Fonte: Autoria própria, 2016

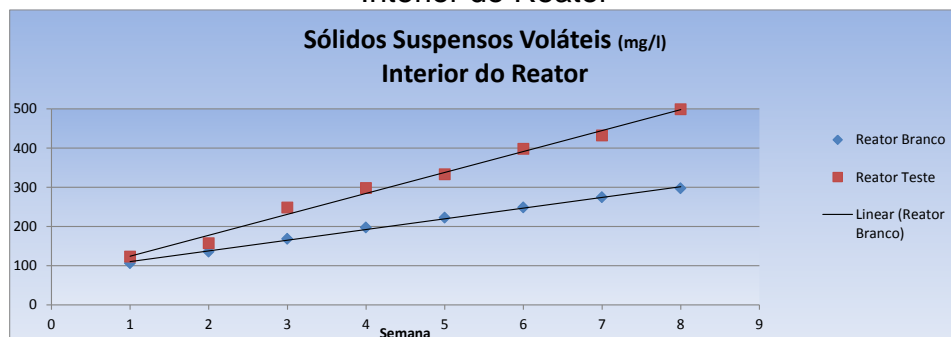
Além do monitoramento do efluente tratado, o estudo buscou trazer evidências para a formação da biomassa no interior de cada reator, através do ensaio de Sólidos Suspensos Voláteis.

Apesar de não fornecer informações quali-quantitativas sobre os microrganismos presentes no meio, a análise deste parâmetro constitui uma ótima ferramenta operacional nas estações de tratamento de esgotos. Serve como referência para avaliações da capacidade de sedimentação e retenção de sólidos, formação de biomassa e a própria atividade biológica.

A ambientação dos microrganismos e a formação de grânulos biológicos, considerados fundamentais para a boa operação de reatores anaeróbios, podem levar meses para ocorrer mesmo em condições ideais. Porém em poucas semanas o protótipo que recebeu o bioaditivo demonstrou rápida evolução neste quesito.

Os resultados indicam que o Reator Teste conseguiu reter melhor os sólidos, repercutindo diretamente na qualidade do efluente tratado. Os valores obtidos indicam que o uso do bioaditivo pode acelerar processos de formação de biomassa e em consequência disso obter melhores resultados em outros parâmetros.

Figura 19 – Sólidos Suspensos Voláteis (mg/l)
Interior do Reator



Fonte: Autoria própria, 2016

Sistemas anaeróbios não costumam apresentar bons índices de remoção de Coliformes Termotolerantes e geralmente estão associados ao fenômeno da retenção dos sólidos da estrutura.

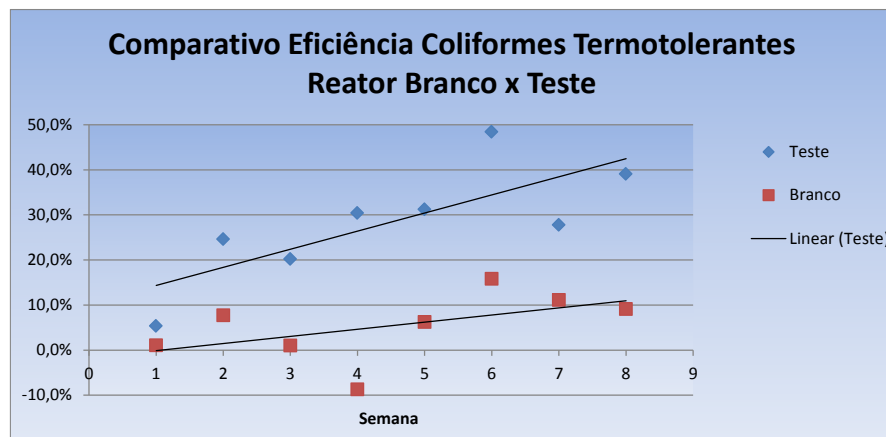
Como observado no parâmetro Sólidos Suspensos Voláteis a condição de retenção foi mais pronunciada no Reator Teste e da mesma maneira os Coliformes também tiveram maior eficiência de remoção neste módulo.

Dessa forma por um período inicial pode-se obter certos percentuais de eficiência, mas depois é esperado o decaimento desses valores em virtude principalmente da saturação de sólidos do meio, que podem comprometer o volume útil do reator.

Entretanto no Reator Teste verificou-se crescimento linear contínuo, com pequena oscilação na sexta semana de experimento, mas retomando o desenvolvimento na sequência.

Enquanto o Reator Branco teve rendimento menor em todas as ocasiões, registrando inclusive eficiência negativa na quarta semana.

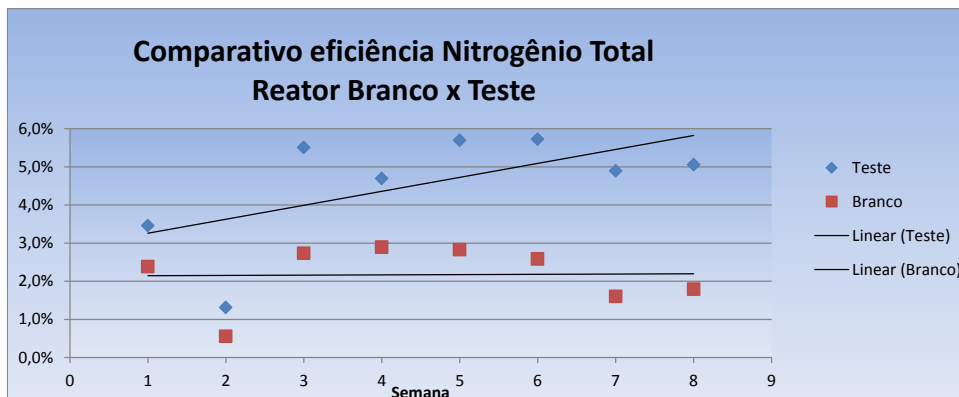
Figura 20 - Eficiência Coliformes Termotolerantes - Reator Teste x Referência- Branco



Fonte: Autoria própria, 2016

O comparativo dos resultados evidenciou melhor rendimento para o Reator Teste, que mesmo com algumas oscilações se manteve de forma constante a frente do Reator Branco. Recebendo apenas a alimentação com o esgoto bruto a eficiência do Reator Branco registrou decaimento a partir da sétima semana de experimento, demonstrado na Figura 21.

Figura 21- Eficiência Nitrogênio Total - Reator Branco x Teste

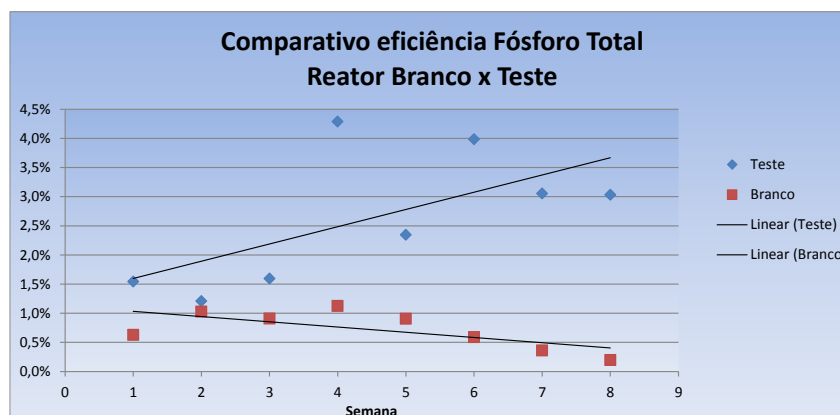


Fonte: Autoria própria, 2016

Observou-se um comportamento muito similar para o quesito Fósforo Total em ambos os Reatores. No reator referência os percentuais de eficiência ficaram sempre menores do que reator teste, apresentando redução nos percentuais nas quatro últimas semanas monitoradas.

O reator teste que demonstrou melhor performance durante todo o experimento, registrou um leve decaimento nas duas últimas semanas conforme Figura 22.

Figura 22 – Eficiência Fósforo Total - Reator Teste x Branco



Fonte: Autoria própria, 2016

Nos parâmetros monitorados, que o rendimento do Reator Teste foi superior em todas as análises realizadas, alcançando elevados percentuais de eficiência se comparados ao Reator Branco. Como os dois reatores protótipos operaram em idênticas condições hidráulicas, orgânicas e físicas, a aplicação do bioaditivo foi o fator

determinante para a obtenção dos resultados satisfatórios no módulo que recebeu o insumo.

Os dados obtidos no estudo permitiram evidenciar a efetiva contribuição que a técnica de bioaugmentação pode conferir a um sistema de tratamento de efluentes, pois todos os parâmetros tiveram crescimento regular e contínuo durante o monitoramento. Assim, essa técnica de biorremediação proposta pode figurar como uma importante alternativa para qualificar os sistemas de tratamento de esgoto, aumentando sua eficiência, ampliando sua capacidade de aportar carga orgânica ou mesmo melhorando as condições operacionais existentes.

Pelo exposto pode-se considerar que o estudo atingiu seus objetivos, e com eles o intuito de difundir o uso de biorremediadores para solução de problemas ambientais históricos.

6 CONCLUSÕES

A partir das avaliações dos resultados e do comportamento dos módulos UASB piloto, pode-se concluir:

1- É possível simular a operação de um reator anaeróbio em escala piloto, desde que se observem os aspectos construtivos e as condições hidráulicas de funcionamento, como vazão de operação, tempo de detenção hidráulica, velocidade ascensional, carga orgânica volumétrica e carga hidráulica volumétrica.

2- O bioaditivo tem uma atuação eficiente segundo os resultados de eficiência de tratamento obtida no reator teste, com valores percentuais sempre superiores ao reator que não recebeu o bioaditivo.

3- Nas condições deste trabalho a técnica de bioaugmentação mostra efeitos positivos de aplicação no tratamento de efluente.

4- A ambientação dos microrganismos com a formação de grânulos biológicos é eficiente no processo estudado, indicando a redução de tempo para o Start Up de um sistema de tratamento.

7 TRABALHOS FUTUROS

Como recomendação para trabalhos futuros, sugere-se que sejam adotadas diferentes dosagens de bioaditivos e regimes diferenciados de carga orgânica e hidráulica, a fim de se traçar cenários e comportamentos distintos para a técnica, além da implementação nos protótipos de outros dispositivos adotados em reatores anaeróbios na escala real.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, a utilização de produtos biológicos para a bioaugmentação, no tratamento de efluentes, representa uma prática comum e comprovadamente segura no mundo inteiro.

No Brasil alguns processos industriais e o uso em residências ou pequenos comércios, são os locais de maior aplicação. Porém o uso em estações de tratamento de esgotos domésticos esbarra em questões administrativas e burocráticas, ocasionando morosidade na análise de autorizações ou mesmo o impedimento de seu uso em escalas maiores, sem um critério técnico transparente. Os produtos oriundos da indústria biotecnológica estão cada vez mais presentes comercialmente, e seu pleno potencial somente será alcançado através do melhor entendimento do tema pelos órgãos ambientais e da atualização da legislação.

Tendo em vista as condições precárias dos serviços de saneamento, os resultados obtidos neste estudo poderão auxiliar na consolidação das técnicas avaliadas, como também reforçar e ampliar junto à comunidade científica e a sociedade, a necessidade de investimento no setor, apresentando o bioaditivo como alternativa viável técnica e economicamente.

REFERÊNCIAS

- ABOUSEOUD M., MAACHI R. ; AMRENE A. (2007) **Biosurfactant Production from olive oil by *Pseudomonas fluorescens***. In: *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology* (ed Méndez-Vilas A.), pp. 340-347. ©FORMATEX.
- ADRIO, J. L., DEMAÏN, A. L. **Microbial enzymes: tools for biotechnological processes**. *Biomolecules*, v. 4, n. 1, p. 117-139, 2014.
- ALEM SOBRINHO, P.; JORDÃO, E.P. **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios – uma análise crítica**. In: CHERNICHARO, C.A.L. (Coord.). *Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios*. Rio de Janeiro: ABES, 2001. Disponível em: < <http://www.finep.gov.br/prosab/livros/ProsabCarlos/Cap-9.pdf>>. Acesso em 24 de outubro de 2015.
- ALVARADO, A.; MONTAÑEZ-HERNÁNDEZ, L.E.; PALACIO-MOLINA, S.L.; OROPEZA-NAVARRO, R.; LUÉVANOS-ESCARREÑO, L.P.; BALAGURUSAMY, N. **Microbial trophic interactions and mcrA gene expression in monitoring of anaerobic digesters**. *Frontiers in microbiology*, v. 5, 197, 2014.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods: for the Examination of Water and Wastewater**, 22nd ed. Washington, DC, 2012.
- ANAND, P.; Modak, J. M.; Natarajan, K. A. **Biobeneficiation of bauxite using *Bacillus polymyxa*: calcium and iron removal**. *Internacional Journal Mineral Processing*, vol. 48, p. 51-60, 1996.
- ANVISA, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: www.anvisa.gov.br, acesso em 19 de julho de 2015.
- APPELS, L. et al. **Anaerobic digestion in global bio-energy production: potential and research challenges**. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, n. 15, p. 4295–4301, 2011.
- AQUINO, S. F., **Caracterização da DQO Efluente de Sistemas de Tratamento Biológico**, *Engenharia Sanitária e Ambiental*, vol. 8, n. 3, jul/set, p. 135-144, 2003.
- ASH, C.; FARROW, JAE.; WALLBANKS, S.; COLLINS, MD. **Phylogenetic heterogeneity of the genus *Bacillus* revealed by comparative analysis of small-subunit-ribosomal RNA sequences**. *Lett. Appl. Microbiol.*, v. 13, p. 202-206, 1991.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12209: Projeto de estações de tratamento de esgotos**. Rio de Janeiro, 2011.

AZMI, A. S. *et al.* **Scaling-Up Recombinant Enzyme Fermentation.** In: *Recombinant Enzymes-From Basic Science to Commercialization.* Springer International Publishing, 2015. p. 99-113.

BARBOSA, N. P. da S.; NASCIMENTO, I. de O.; SILVA, P. B. R.; CAVALCANTE, D. L. **Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo manejado com herbicidas.** In: Congresso Brasileiro de Agroecologia, 8, Porto Alegre, Resumos, 2013, Porto Alegre.

BARROS, A. A. C. ; WUST, E.; MEIER, H. F. **Estudo da viabilidade técnico-científica da produção de biodiesel a partir de resíduos gordurosos.** Engenharia Sanitária Ambiental, Blumenau, v. 3, n. 13, p.255-262, set. 2008. Disponível em: <<http://ow.ly/KAI8L>>. Acesso em: 18 jan. 2016.

BARROS, F.F.C.; QUADROS, C.P.; PASTORE, G.M. **Propriedades emulsificantes e estabilidade do biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis* em manipueira.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 28, p. 979-985, 2008.

BELLI FILHO, P. et al. **Tratamento de odores em sistemas de esgotos sanitários. Pós tratamento de efluentes de reatores anaeróbios – PROSAB,** cap. 8, 2001.

BEVERIDGE, T. J.; Murray, R. G. E., **Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*.** Journal Bacteriology, v. 141, p. 876-887, 1980.

BEZERRA, R. P.; Borba, F. K. S. L.; Moreira, K. A. M.; Filho, J. L. L. ; Porto, A. L. F.; Chaves, A. C., **Extração Líquido-Líquido da Amilase Produzida pelo *Bacillus subtilis* no Sistema de Duas Fases Aquosas.** Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular SBBq, 2002. Disponível em: <www.sbbq.org.br>. Acesso em 10 de outubro de 2015.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente, CONAMA. **Resolução nº 463, de 29 de julho de 2014.** Dispõe sobre o controle ambiental de produtos destinados à remediação. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=705>> Acesso em 04 de maio de 2015.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente, CONAMA. **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011.** Dispõe sobre as condições de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Disponível em:<http://www.legislacao.mutua.com.br/pdf/diversos_normativos/conama/2011_CONAMA_RES_430.pdf> Acesso em 18 de julho de 2015.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente, CONAMA. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.** 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. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/conama>>. Acesso em 04 de maio de 2015.

PNUD BRASIL, (2004). **Saneamento ruim piora mortalidade infantil**. Disponível em: <http://www.pnud.org.br/pobreza_desigualdade/reportagens/index.php?id01=182&lay=pde>. Acesso em 20 de maio de 2016.

SNIS – Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. **Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgoto - 2012**. Ministério das Cidades. Brasília, 2014. 164p.

BUENO, S. M. **Bactérias produtoras de biosurfactantes: isolamento, produção, caracterização e comportamento num sistema modelo**. Tese (doutorado em engenharia e ciência de alimentos), Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto - SP, 86 f, 2008.

CANDIDO, J. L.. **Falhas de mercado e regulamentação no saneamento básico**. Revista Eletrônica informe econômico . Ano 1, n. 1, ago., p.85 a 89, 2013. Disponível em www.ojs.ufpi.br/index.php/economiaufpi/article/download/1281/1004 Acesso em 15 de agosto 2016.

CARDOSO, M. G. **Bioaumentação em reatores anaeróbio e aeróbio e uso de reator nitrificante para redução de carga orgânica e nitrogenada**. 2012. 100f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS. 2012. Disponível em <http://cascavel.cpd.ufsm.br/tede/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=4334> Acesso em 29 junho de 2015.

CARVALHO, P. O.; CAMPOS, P. R. B.; D’ADDIO NOFFS, M.; OLIVEIRA, J. G.; SHIMIZU, M. T.; SILVA, D. M. (2003). **Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados**. *Química Nova*, v. 26, n. 1, p. 75-80.

CAVALCANTI, JOSÉ EDUARDO W. de A. **Manual de tratamento de efluentes industriais**. São Paulo: JE Cavalcanti, 2009. 543 p. Disponível em: <<http://bit.ly/209KTmH>>. Acesso em 10 de fevereiro 2016.

COELHO, L. F. **Interação de *Pseudomonas spp.* e de *Bacillus spp.* com diferentes rizosferas**, Dissertação de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical do Instituto Agrônomo, 71 p., Campinas, SP, 2006.

COSTA, E.T. **Cooperação internacional em biotecnologia**. 78 f 2006. Monografia de Graduação em Relações internacionais – Centro universitário de Brasília, Brasília, 2006.

COSTELLI, M. C., **Cultivo de *Bacillus polymyxa* para a Produção de Acetoína: Influência do pH e do Tempo de Cultivo do Inóculo**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. 91 p., 2005.

CHAVES, H. A. F., JONES, C. M., DOURADO, J. D. A. (2006). **The Use of Biotechnology to Help Achieve Sustainability for the Brazilian Shrimpfarming Industry, Proceedings**, IV Global Conference on Sustainable Product Development and Life Cycle Engineering, Oct 03 2006, São Carlos, SP.

CHERNICHARO, C. A. de L. **Reatores anaeróbios**. Belo Horizonte: UFMG, 2007. 246 p.

CHIN, K. K.; ONG, S. L.; POH, L. H.; KWAY, H. L., **Wastewater treatment with bacterial augmentation**. Water Science & Technology, vol. 33, n. 8, p. 17- 22, 1996.

CUNHA, C. D.; LEITE, S. G. F.; ROSADO, A. S.; DO ROSÁRIO, M. **Biorremediação de água subterrânea contaminada com gasolina e análise molecular da comunidade bacteriana presente**. In: CETEM/MCT, Rio de Janeiro, Série Tecnologia Ambiental, 2008, 45p., Rio de Janeiro.

DEMIREL, B.; SCHERER, P. **The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review**. *Environmental Science Biotechnology*, n. 7, p.173-190, 2008.

DEMIREL, B.; YENIGÜN, O. **Two phase anaerobic digestion processes: a review**. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 77, n. 7, p. 743-755, 2002.

DE VOS, Paul, et al. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. The Firmicutes, Vol 3 Second edition. Springer, 2009.

FEITOSA, J.; PIMENTEL, I. C.; BEAUX, M. R.; DALKE, C. R.; Pastro, F. Z.; Talamini, A., **Isolamento de Microorganismos Degradadores de Compostos Lipídicos de Origem Vegetal em Amostras de Águas da Barragem do Rio Passaúna-Araucária, PR**. B.CEPPA, Curitiba, v. 21, n. 1, jan/jun, 2003

FELIX, C. R.; NORONHA, E. F.; MARCO, J. L. **Enzimas como agentes biotecnológicos**. Ribeirão Preto: Legis Summa, p. 327-347, 2004.

FELIX, A.K.N. **Caracterização e estudo da aplicabilidade do biossurfactante produzido por Bacillus subtilis LAMI005 a partir do suco de caju**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, UFC, Fortaleza.

FERNANDES, G.F.R. **Desempenho de processo anaeróbio em dois estágios (reator compartimentado seguido de reator UASB) para tratamento de águas residuárias de suinocultura**. 2004. 135 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004

FERNANDES, P.F. **Produção de biossurfactantes por *Bacillus* spp. em condição anaeróbia.** 2007. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola, UFV, Viçosa.

FORESTI, E.; FLORÊNCIO, L.; HAANDEL, A. van; ZAIAT, M.; CAVALCANTI, P. F. **F. Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo.** Rio de Janeiro: ABES, 1999. cap. 2, p. 29-52.

FOX, S.L.; BALA, G.A. **Production of surfactant from *Bacillus subtilis* ATCC 21332 using potato substrates.** Bioresource Technology, v. 75, p. 235-240, 2000.

GORLACH-LIRA, K.; PEDROSA, M.L.V.; BURDZIEJ-POKOJSKA, A.; ROZYCKI, H.; DAHM, H. **Response surface analysis on the effect of temperature and pH on Growth and proteolytic activity of thermophilic *Bacillus* sp.** Braz. Arch. Biol. Technol. Vol53, n 5. Curitiba, Set/out 2010.

GAYLARDE, C. C. **Biorremediação.** Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, Porto Alegre, v. 36, n. 34, jan/jun, 2005. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAFG8MAK/biorremediacao>>. Acesso em 29 julho de 2015.

GAYLARDE, C. C.; Bellinaso, M. de L. B.; Manfio, G. P., **Aspectos Biológicos e Técnicos da Biorremediação de Xenobióticos.** Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, n. 34, p. 36-43, jan/jun, 2005

GERARDI, M.H. **The microbiology of anaerobic digesters.** Jon Wiley & Sons, 2003. 130 p.

GHARAEI-FATHABAD, E. Biosurfactants in pharmaceutical industry: A mini-review. **American Journal of Drug Discovery and Development**, p. 1–11, 2010.

Gharaei-Fathabad E. (2011) **Biosurfactants in pharmaceutical industry: a mini-review.** *American Journal of Drug Discovery and Development* 1: 58-69.

GIATTI, L. L.; ROCHA, A. A.; SANTOS, F. A.; BITENCOURT, S. C.; PIERONI, S. R. M. **Condições de Saneamento Básico em Iporanga, Estado de São Paulo.** Revista Saúde Pública, Vol. 38, Pág. 571-578. 2004. Disponível em: http://www.fara.edu.br/sipe/index.php/renefara/article/view/380/pdf_34. Acesso em: 25 out. 2015.

GONÇALVES, J. S. **Estratégias de biorremediação para solos contaminados com o herbicida terbutilazina com base na bioadição de *Pseudomonas* sp.** ADP. 2013, 49f. Dissertação Mestrado em Microbiologia Aplicada – Departamento de Biologia Vegetal, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2013.

HUANG, L. N.; CHEN, Y. Q.; ZHOU, H.; LUO, S.; LAN, C. Y.; QU, L. H. **Characterization of methanogenic Archaea in the leachate of a closed municipal solid waste landfill.** *FEMS Microbiology Ecology*, v.46, p. 171-177, 2006.

HUANG, X.; LIU, J.; WANG, Y.; LIU, J.; LU, L. **The positive effects of Mn²⁺ on nitrogen use and surfactin production by *Bacillus subtilis* ATCC 21332.** *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, v. 29, p. 381-389, 2015.

IBAMA, **Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis.** Disponível em: www.ibama.gov.br. Acesso 26 de junho de 2015.

IMHOFF, K. R., IMHOFF, K., **Manual de tratamento de águas residuárias.** São Paulo: Ed. Edgar Blücher, 1996.

ISBIZUKA, M.M., **A biotecnologia no tratamento de dejetos de suínos.** *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, n. 3. p. 16-17, 1997.

JERÔNIMO, C. E. M. et al. **Bioaugmentação para degradação de efluentes do processamento da castanha de caju.** *Revista Holos*, Potiguar, v. 3, n. 28, p. 47-59, fev./jul., 2012. Disponível em <<http://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/829/555>>. Acesso em 13 de julho de 2015.

IVANOVA, E.P.; VYSOTSKII, M.V.; SVETASHEV, V.I.; NEDASHKOVSKAYA, O.I.; GORSHKOVA, N.M.; MIKHAILOV, V.V.; YUMOTO, N.; SHIGERI, Y.; TAGUCHI, T.; YOSHIKAWA, S. **Characterization of *Bacillus* strains of marine origin.** *International Microbiology*, v. 2, p. 267-271, 1999.

JONES, C. M. **A Bioaugmentação pode ajudar os Sistemas de Tratamento de Efluentes.** [S.l.: s.n.], 2012. Disponível em <http://www.tratamentodeagua.com.br/r10/Lib/Image/bib__1705625172_A%20Bioaugmenta%C3%A7%C3%A3o%20pode%20ajudar%20os%20Sistemas%20de%20Tratamento%20de%20Efluentes.pdf>. Acesso em 15 julho de 2015.

JORDÃO, E. P. e PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos.** ABES 7ª ed. Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2014.

KIRK, O., BORCHERT, T. V., FUGLSANG, C. C. **Industrial enzyme applications.** *Current opinion in biotechnology*, v. 13, n. 4, p. 345-351, 2002.

KRALOVÁNSZKY, Ubul Pál; FÁRI, Miklós Gábor. **The founding father of biotechnology: Károly (Karl) Ereky.** *International Journal Of Horticultural Science*, Debrecen, v. 1, n. 12, p.9-12, 2006.

KREUZER, H.; MASSEY, A. **Engenharia Genética e Biotecnologia.** Porto Alegre : Artmed, p.17-45, 2002.

KUMAR, R., HU, F., SANNIGRAHI, P., JUNG, S., RAGAUSKAS, A. J., WYMAN, C. E. **Carbohydrate derived-pseudo-lignin can retard cellulose biological conversion. Biotechnology and Bioengineering.** V 110.p 737-753.2013.

LANG, S. **Biological amphiphiles (microbial biosurfactants).** Current Opinion in Colloid e Interface Science, v. 7, n. 1-2, p. 12-20, 2002.

LAZZARETTI, E.; Campos, A. F.; Nogueira, J. C. B., **Efeito da Adição de microrganismos (Bioaumento) em uma Estação de Tratamento de Efluentes por Lodo Ativado em uma Indústria de Papel e Celulose.** XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, Porto Alegre, 2000. Disponível em: www.ciplima.org.pe/sanitaria/xxvii_con/tema01/i-050.pdf. Acesso em 01 de julho de 2015.

LAZZARETTI, E. & BETTIOL, W. **Tratamento de Sementes de Arroz, Trigo, Feijão e Soja com um Produto Formulado à Base de Células e de Metabólitos de *Bacillus subtilis*,** Scientia Agrícola, vol. 54, n. 1-2, Piracicaba, 1997.

LEE, L.; TIN, S.; KELLEY, S. T. **Culture-independent analysis of bacterial diversity in a child-care facility.** Biomedical Central, v.7, n 1-2, p. 12-20, 2002.

LEITE, R. A.; DA SILVA, L. V.; CRUVINEL, D. A.; LEITE, D. G. **Avaliação do Biodigestor de Fluxo Tubular Contínuo Modelo Vinebiodigestor, Através de Análises Químicas Durante o Tratamento de Dejetos de Suínos.** UNOPAR Científica Ciências Exatas e Tecnológicas, v.10, n.1, p.29-35, nov. 2014.

LETTINGA G. **International course on anaerobic treatment.** Wageningen: Agricultural University / IHE Delft. 1995.

LIEBEG, E. W. e CUTRIGHT, T. J. **The investigation of Enhanced Biorremediation thought the Addition of Macro and Micro Nutrients in PAH Contaminated Soil.** International Biodeteriation & Biodegradation, vol. 44, p. 55-64, 1999.

LIMBERGEN, H. V.; Top, E. M.; VERSTRAETE, W., **Bioaugmentation in activated sludge: current features and future perspectives.** Applied Microbiology and Biotechnology, vol.50, n. 1, julho, 1998.

LOISEAU, C. et al. **Surfactin from *Bacillus subtilis* displays an unexpected anti-*Legionella* activity.** Applied microbiology and biotechnology, p. 1-11, 2015.

LUERCE, R. de F., **Produção de Acetoína por *Bacillus polymyxa*.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. 83 p., 2002

LUNA, J.M.; SARUBBO, L. A.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. **A new biosurfactant produced by *Candida glabrata* UCP1002: characteristics of stability and application in oil recovery.** Brazilian Archives of Biology and Technology. In press. 2008.

MACEDO, J. A. B. **Programa de bioaugmentação (bioaugmentation), uma tecnologia avançada para tratamento de efluentes laticínios**. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 55, n. 315, p. 47-52, jul/ago, 2000. Disponível em: <<http://www.jorgemacedo.pro.br/BioaugmentacaoCong2000.pdf>>. Acesso em 13 julho de 2015.

MAHMOUD, N. et al. **Solids removal in upflow anaerobic reactors, a review**, *Bioresource Technology*, v. 90, p. 1-9, 2003

MALAJOVICH M. A. **Biotecnologia 2011**. Rio de Janeiro, Edições da Biblioteca Max Feffer do Instituto de Tecnologia ORT, 2012

MARTINS, B. A. D., **Avaliação da Cinética de Biodegradação do Etanol em Concentrações Mínimas Necessárias dos Nutrientes Nitrogênio e Fósforo**. Dissertação de mestrado. Departamento de Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, 96 p., março, 2004.

MEYSTRE, J. A. **Partida de um reator UASB, em escala piloto, para tratamento de efluente doméstico : estudo de caso para a região da Serra da Mantiqueira**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Itajubá – MG.128p., 2007.

MENDES, A. A. M.; Castro, H. F. de C.; Pereira, E. B.; Júnior, A. F., **Aplicação de Lipases no Tratamento de Águas Residuárias com Elevados Teores de Lipídeos**. Química Nova, vol. 28, n 2, p. 296-305, 2005.

MENDES, R. A. et al. **Contaminação ambiental por Bacillus cereus em unidade de alimentação e nutrição**. Revista de Nutrição, v. 17, n. 2, p. 255-261, abr/jun, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S141552732004000200012&script=sci_arttext>. Acesso em 13 de julho de 2015.

MENEGHETTI, L. R. R. **Biorremediação na descontaminação de um solo residual de basalto contaminado com óleo diesel e biodiesel**. 2007, 112f. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Engenharia, Faculdade de Engenharia e Arquitetura. Universidade de Passo Fundo, Passo fundo, Brasil, 2007.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse**. 3ª. Ed. New York: Tata McGraw-Hill, 1995, 1334 p.

Millenium Tecnologia Ambiental. Disponível em: www.enzilimp.com.br. Acesso em 20 de junho de 2015.

MOUSSA T.A.A., AHMED A.M., & ABDELHAMID S.M.S. **Optimization of cultural conditions for biosurfactant production from *Nocardia amarae***. *Journal of Applied Sciences Research* 11: 844-850.

NAKANO, M. M.; Zuber, P., **Anaerobic Growth af a “Strict Aerobe” (*Bacillus Subtilis*)**. Annual Review of Microbiology, vol. 52, p. 165-190, outubro, 1998.

OLIVA, L. C. H. V. **Tratamento de esgotos sanitários com reator anaeróbio de manta de lodo (UASB). Protótipo: desempenho e respostas dinâmicas às sobrecargas hidráulicas**, São Carlos, Tese de Doutorado em Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, USP.

OLIVEIRA, S.M.A.C. **Análises de desempenho e confiabilidade de estações de tratamento de esgotos**. 2006. 214 f. Tese (Doutorado em Engenharia Sanitária e Ambiental) – Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte.

OLIVEIRA, R. A. de. **Efeito da concentração de sólidos suspensos do afluente no desempenho e características do lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo tratando águas residuárias de suinocultura**. São Carlos – SP, 1997. 359 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil, área de concentração: Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo.

PARK, C.; LEE, C.; KIM, S.; CHEN, Y.; CHASE, H.A. **Upgrading of anaerobic digestion by incorporating two different hydrolysis processes**. J. Biosci. Bioeng. 100, 164–167, 2005.

PASSEGGI, M. et al. **Modified UASB reactor for dairy industry wastewater: performance indicators and comparison with the traditional approach**. Journal of Cleaner Production, 26, 90 – 94, 2012.

PERLCZAR, M. J.; Chan, E. C. S.; Krieg, N. R. **Microbiologia – Conceitos e Aplicações**. Vol. 1, 2ª edição, Ed. Makron Books, 2005.

PEREIRA, E. R. **Desempenho e caracterização microbiana do processo de dois estágios com Reatores Anaeróbios de Fluxo Ascendente com Manta de Lodo (UASB) tratando águas residuárias de suinocultura**. 2004. 103 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

PEREIRA, E. B.; DE CASTRO, H. F.; FURIGO JR, A. **Hidrólise enzimática do efluente proveniente de frigorífico avícola empregando lipase de *Candida rugosa***. Anais do XIV Simpósio Nacional de Fermentações - SINAFERM, Florianópolis, SC.

PINHEIRO, A. (2004). **Esgoto doméstico: o pior problema ambiental brasileiro**. Revista Online EcoTerra Brasil. Disponível em :<http://www.ecoterrabrasil.com.br/home/index.php?pg=ecoentrevistas&tipo=temas&cd=937>. Acesso em 01de fevereiro de 2016.

POVINELLI, S. C. S. **Estudo da hidrodinâmica e partida de reator anaeróbio com chicanas tratando esgoto sanitário**. 1994. 181f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1994.

PRIEST, F.G. **Systematics and ecology of *Bacillus***. New York: American Society of Microbiology, 1993. Acesso em: <
<http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555818388.chap1>> Acesso em 13 de julho de 2016.

RAGSDALE, S. W.; PIERCE, E. **Acetogenesis and the Wood–Ljungdahl pathway of CO₂ fixation. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, v. 1784, n. 12, p. 1873-1898, 2008.

RAMOS, D. T. **Biorremediação ativa de águas subterrâneas em aquífero contaminado com biodiesel**. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, 263p., 2013.

RAMOS, H.R.; HOFFMANN, T.; MARINO, M.; NEDJARI, H.; PRESECAN-SIEDEL, E.; REESEN, O.; GLASER, P.; JAHN, D. **Fermentative metabolism of *Bacillus subtilis*: physiology and regulation of gene expression**. Journal of Bacteriology, v. 182, n. 11, p. 3072- 3080, 2000.

RAMOS, A. R. **Avaliação da influência da operação de descarte de lodo no desempenho de reatores UASB em estações de tratamento de esgotos no Distrito Federal**. 2008. 135f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Universidade de Brasília- Brasília, 2008.

RAMOS, D. T. **Biorremediação ativa de águas subterrâneas em aquífero contaminado com biodiesel**. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, 263p., 2013

REGINATTO, C.; THOMÉ, A.; COLLA, L. M.; MENEGHETTI, L. R. R.; CECCHIN, I. **Biorremediação de um solo argiloso contaminado com uma mistura de diesel e biodiesel através da bioventilação**. RECEN - Revista Ciências Exatas e Naturais, v.14, n.1, p.43-58, jan/jun. 2012.

REY, M. W.; Ramaiya, P.; Nelson, B. A.; Brody-Karpin, S. D.; Zaretsky, E. J.; Tang, M.; Leon, A. L.; Xiang, H.; Gusti, V.; Clausen, G.; Olsen, P. B.; Rasmussen, M. D. Andersen, J. T.; Jorgensen, P. L.; Larsen, T. S.; Sorokin, A.; Bolotin, A.; Lapidus, A.; Galleron, N.; Ehrlich, S. D.; Berka, R. M. **Complete genome sequence of the industrial bacterium *Bacillus licheniformis* and comparisons with closely related *Bacillus* species**. Genome Biology, vol. 5, 2004.

RIBEIRO, D.S.; HENRIQUE, S.M.B.; OLIVEIRA, L.S.; MACEDO, G.A.; FLEURI, L.F. **Enzymes in juice processing: a review**, International Journal of Food Science & Technology, v.45, n.4, p.635-641, 2010.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria do Meio Ambiente, Conselho Estadual do Meio Ambiente – CONSEMA, **Resolução nº 128, de 07 de dezembro de 2006**. Disponível em:

<http://www.sehabs.rs.gov.br/conteudo/4937/?Resolu%C3%A7%C3%A3o_CONSEMA_N%C2%BA_128%2F2006>. Acesso em 10 de julho de 2015.

RODRIGUES, L.S.; Silva, I.J.; Oliveira, P.R.; Campos, C.M.M., Silva, F.L., **Avaliação in vitro da eficiência de inóculos no tratamento anaeróbio de efluentes líquidos de suinocultura**. Periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, vol.56, n. 5, p. 647-652, 2004.

ROSA, J. **Programa de Bioaugmentação para Aplicação em Processos Biológicos de Tratamento de Águas e Resíduos Orgânicos em Geral**. Revista Nacional da Carne, n. 223, p. 48-50, setembro, 1995.

SAIANI, C.C.S.; GALVÃO, G. C. Evolução das desigualdades regionais do déficit de acesso a serviço de saneamento básico no Brasil: evidências de um incentivo adverso dos Objetivos de Desenvolvimento do Milênio?.

Anais do XXXIX Encontro Nacional de Economia, Associação Nacional dos Centros de Pós -Graduação em Economia, 2011.

SAMSON, R.; PAUSS, A., GUIOT, S.R. **Immobilized systems in anaerobic digestion processes**. In: TYAGI, R. D.; VEMBU, K. (ed). Wastewater treatment by immobilized cells. CRC Press Boca Raton, FL., 1990. p.153-190.

SANDRI, M. R.; FEITOSA L. C. A.; PIRES, A. S.; PIVA, G. A. **Isolamento de micro-organismos degradadores de hidrocarbonetos provenientes de solos contaminados, de solos florestais e de resíduos da indústria vinícola**. In: **Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente**, 3., 2012, Bento Gonçalves. Tema 6 – Tecnologias Ambientais. Bento Gonçalves: 2012.

SANTOS, E.M.A. *et al.* **Influência do tempo de detenção hidráulica em um sistema UASB seguido de um reator biológico com fungos para tratar efluentes de indústria de castanha de caju**. Revista Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 11, n. 1, p. 39-45, 2006.

SCHALLMEY, M., SINGH, A. and WARD, O. P. – **Developments in the use of *Bacillus* species for Industrial Production**, Canadian Journal Microbiology, v.50, p. 1-17, 2004.

SCRIPTORE, J. S.; JUNIOR, R. T. **A estrutura de provisão dos serviços de saneamento básico no Brasil: uma análise comparativa do desempenho dos**

provedores públicos e privados. Revista de Administração Pública (RAP). Rio de Janeiro, nov./dez, p. 1479 a 1504,2012.

SILVA, G. H. R. e NOUR, E. A. A. (2004). **Reator compartimentado anaeróbio/aeróbio: Sistema de baixo custo para tratamento de esgotos de pequenas comunidades.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 9(2) p.268-275. Campina Grande, PB.

SCHINK, B. **Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation.** Microbiology and Molecular Biology Reviews, v. 61, n. 2, p. 262-280, 1997.

SCHMIDELL, W., LIMA, U. de A., AQUARONE, E., BÓRZANI, W. **Biotecnologia Industrial**, vol. 2, Ed. Edgard Blucher Ltda, 2001.

SCHNEIDER, D.R., **Bioaumento: uma solução natural para problemas não naturais.** Revista Nacional da Carne, n. 176, p. 57-59, 1991.

SCHNEIDERS, D.; DA SILVA, J. D.; TILL, A.; LAPA, K. R.; PINHEIRO, A. **Atividade metanogênica específica (AME) de lodos industriais provenientes do tratamento biológico aeróbio e anaeróbio.** Revista Ambiente & Água – An Interdisciplinary Journal of Applied Science, v.8, n.2, p.135-145, 2013

SCHALLMEY, M., SINGH, A., WARD, O. P. **Developments in the use of Bacillus species for industrial production.** Canadian journal of microbiology, v. 50, n. 1, p. 1-17, 2004.

SEGHEZZO, L., GUERRA, R.G., GONZALEZ, S.M., TRUPIANO, A.P., FIGUEROA, M.E., CUAVAS, C.M., ZEEMAN, G. and LETTINGA, G. (2002). **Removal efficiency and methanogenic activity profiles in a pilot-scale UASB reactor treating settled sewage at moderate temperatures.** Wat. Sci. Tech., 45 (10), 243 – 248.

SHARMA, P.K. & RAO, K. H., **Role of a heterothrophic *Paenibacillus polymyxa* bacteria in the bioflotation of some sulfide minerals.** Minerals & Metallurgical Processing. 14, 4, p. 35, 1999.

SILVA, da W. T. L.; DE NOVAES, A. P.; KUROKI, V.; MARTELLI, L. F. de A.; JÚNIOR, L. M. **Avaliação físico-química de efluente gerado em biodigestor anaeróbio para fins de avaliação de eficiência e aplicação como fertilizante agrícola.** Quim. Nova, v.35, n.1, p.35-40, 2012.

SILVEIRA, J.M.F.J., FUTINO A, OLALDE R. **Biotecnologia: corporações, financiamento da inovação e novas formas organizacionais.** Economia e Sociedade. 2002, 11(18):129-64.

TOMATONI, E.J., VITOLO, M. **Production of high-fructose syrup using immobilized invertase in a membrane reactor.** Journal of Food Engineering. N 80, p 662-667, 2007.

TONINI, R. M. C. W.; REZENDE, C. E.; GRAVITOL, A. D. **Degradação e biorremediação de compostos do petróleo por bactérias**: revisão. *Oecologia Australis*. v.14, n.4, p.1025-1035, dez. 2010.

TODAR, K. **"The Genus *Bacillus*"**. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology, 2005. Disponível em: www.textbookofbacteriology.net. Acesso em 09 de maio de 2015.

TORTORA, G. J.; Funke, B. R.; CASE, C. L., **Microbiologia**, Ed. Artimed, 8ª edição, 2005.

TRINDADE, J. V. O. **Avaliação das técnicas de bioaugmentação e bioestimulação no processo de biorremediação de solo contaminado por hidrocarbonetos de petróleo**. Tese de mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 127 p., Rio de Janeiro, 2002.

VAN HAANDEL, A.C.; LETTINGA, G. **Tratamento anaeróbio de esgotos**: um manual para regiões de clima quente. Campina Grande, 1994, 208 p.

VAN HAANDEL et al. **Anaerobic reactor design concepts for the treatment of domestic wastewater**. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, Dordrecht, v. 5, n. 1, p. 21-38, 2006.

VEITH, B.; HERZBERG, C.; STECKEL, S.; FEESCHE, J.; MAURER, K. H.; EHRENREICH, P.; BÄUMER, S.; HENNE, A.; LIESEGANG, H.; MERKL, R.; GOTTSCHALK, G., **The Complete Genome Sequence of *Bacillus licheniformis* DSM13, an Organism with Great Industrial Potential**. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, n. 7 p. 204–211, 2004.

VERSIANI, B. M. **Desempenho de um reator UASB submetido a diferentes condições operacionais tratando esgotos sanitários do campus da UFRJ**. Dissertação de mestrado em Ciências em Engenharia Civil. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

VON SPERLING, M.; **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 4. ed. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 2014.

YOUSSEF, N.; SIMPSON, D.R.; McINERNEY, M.J.; DUNCAN, K. E. ***In-situ* lipopeptide biosurfactant production by *Bacillus* strains correlates with improved oil recovery in two oil wells approaching their economic limit of production**. *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 81, p. 127–132, 2013.

WATANABE, K., **Microorganisms relevant to bioremediation**. *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 12, p. 237-41, junho, 2004.

WEBER, B.; SANTOS, A. A. Utilização da Biorremediação como Ferramenta para o controle da Degradação Ambiental Causada pelo Petróleo e seus Derivados. **Engenharia Ambiental** - Espírito Santo do Pinhal, v.10, n.1, p.114-133, jan./fev. 2013.

WILLIAMS, C.M.; Richter, C. S.; Mackenzie, J. M.; Shih, J. C. H., **Isolation, Identification, and Characterization of a Feather-Degrading Bacterium**. Applied and Environmental Microbiology, vol. 56, n. 6, p. 1509 -1515, 1990.

WATTIAU, P.; RENARD, M. E.; Ledent, P.; Debois, V.; Blackman, G., Agathos, S. N., **A PCR test to identify *Bacillus subtilis* and closely related species and its application to the monitoring of wastewater biotreatment**. Applied Microbiology and Biotechnology, vol.56, n. 5-6, setembro, 2001.

ZANOTTO, S.P. (2003). **Utilização de enzimas e microrganismos para a obtenção de compostos oticamente ativos**. *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, SC, Brasil. 123p.

ZAWIERUCHA, Iwona; MALINA, Grzegorz. **Bioremediation of Contaminated Soils: Effects of Bioaugmentation and Biostimulation on Enhancing Biodegradation of Oil Hydrocarbons**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2011. Cap. 8. p. 187-201. (108).

ANEXO A – Tabelas de resultados dos ensaios

Anexo A 1 - Temperatura interna reator (°C)

Amostra	Reator Branco	Reator Teste	Ambiente
1	26,5	26,5	29
2	24,0	24,0	28
3	25,7	25,7	30
4	24,5	24,6	28
5	24,2	24,6	27
6	25,8	25,8	28
7	24,3	24,5	32
8	24,8	25,1	30
9	24,7	24,7	32
10	25,6	25,6	31
11	24,3	24,2	33
12	23,9	23,9	32
13	25,7	25,7	30
14	25,5	25,5	29
15	24,8	24,9	30
16	24,7	24,7	37
17	25,1	25,2	36
18	24,6	24,6	35
19	24,3	24,3	30
20	23,7	23,9	35
21	26,2	26,2	32
22	25,8	25,8	29
23	24,5	24,5	28
24	24,2	24,5	27
25	24,7	24,8	30
26	24,6	24,8	33
27	24,6	24,6	31
28	24,8	25,1	30
29	24,6	24,6	29
30	24,6	24,6	30
31	24,8	24,8	32
32	24,8	24,9	32
33	24,3	24,3	35
34	24,1	24,1	32
35	24,0	24,3	30
36	23,7	23,7	29
37	24,5	24,5	30
38	24,5	24,6	30
39	23,6	23,6	34
40	25,5	25,5	32

Fonte: Autoria própria, 2016

Anexo A 2 - pH

Amostra	Afluente	Efluente Branco	Efluente Teste
1	6,8	6,8	6,8
2	6,9	6,8	6,8
3	7,2	7,2	7,2
4	7,0	7,0	6,9
5	7,2	7,0	7,0
6	6,9	6,9	7,0
7	7,0	7,0	6,8
8	7,0	7,0	7,0
9	6,9	7,0	6,9
10	7,0	7,0	7,0
11	7,1	7,0	6,9
12	7,0	7,1	7,0
13	7,0	7,0	7,0
14	7,2	7,2	7,0
15	7,1	7,1	7,0
16	7,0	7,0	6,9
17	7,0	7,0	6,9
18	7,0	6,9	7,0
19	7,1	7,0	6,9
20	7,1	7,0	7,0
21	7,0	7,0	6,9
22	6,9	7,0	6,9
23	7,2	7,0	7,0
24	7,0	7,0	7,0
25	7,1	7,0	6,9
26	7,1	7,0	6,8
27	7,0	7,0	7,0
28	6,9	7,0	6,8
29	7,0	6,8	6,9
30	7,0	6,9	7,0
31	7,0	6,9	7,0
32	7,0	6,9	6,9
33	7,1	7,0	6,9
34	7,1	7,0	7,0
35	7,0	6,9	6,9
36	7,1	7,0	6,9
37	7,0	6,9	6,9
38	7,0	7,0	6,9
39	7,1	6,9	6,9
40	7,0	7,0	7,0

Fonte: Autoria própria, 2016

Anexo A 3 - DBO₅ (mg/L) – Reator Branco

Amostra	Afluente	Efluente	Eficiência %
1	280	261	6,8%
2	265	247	6,8%
3	278	248	10,8%
4	298	253	15,1%
5	319	278	12,9%
6	246	221	10,2%
7	277	233	15,9%
8	292	247	15,4%

Fonte: Aatoria própria, 2016

Anexo A 4 - DBO₅ (mg/L) - Reator Teste

Amostra	Afluente	Efluente	Eficiência %
1	280	254	9,3%
2	265	224	15,5%
3	278	227	18,3%
4	298	232	22,1%
5	319	212	33,5%
6	246	168	31,7%
7	277	189	31,8%
8	292	186	36,3%

Fonte: Aatoria própria, 2016

Anexo A 5 - DQO (mg/L) – Reator Branco

Amostra	Afluente	Efluente	Eficiência %
1	700	678	3,1%
2	662	589	11,0%
3	639	595	6,9%
4	835	728	12,8%
5	861	798	7,3%
6	542	498	8,1%
7	609	556	8,7%
8	818	747	8,7%

Fonte: Aatoria própria, 2016

Anexo A 6 - DQO (mg/L) - Reator Teste

Amostra	Afluente	Efluente	Eficiência %
1	700,0	654	6,6%
2	662,0	566	14,5%
3	639,0	572	10,5%
4	835,0	698	16,4%
5	861,0	683	20,7%
6	542,0	432	20,3%
7	609,0	463	24,0%
8	818	584	28,6%

Fonte: Aatoria própria, 2016

Anexo A 7 - Sólidos Suspensos Voláteis (mg/L) – Reator Branco

Amostra	Afluente	Efluente	Eficiência %
1	186	180	3,2%
2	197	192	2,5%
3	182	173	4,9%
4	222	212	4,5%
5	238	227	4,6%
6	199	193	3,0%
7	189	181	4,2%
8	195	189	3,1%

Fonte: Autoria própria, 2016

Anexo A 8 - Sólidos Suspensos Voláteis (mg/L) - Reator Teste

Amostra	Afluente	Efluente	Eficiência %
1	186	178	4,3%
2	197	165	16,2%
3	182	152	16,5%
4	222	182	18,0%
5	238	186	21,8%
6	199	157	21,1%
7	189	136	28,0%
8	195	137	29,7%

Fonte: Autoria própria, 2016

Anexo A 9 - Sólidos Suspensos Voláteis (mg/L)

Interior do Reator

Amostra	Reator Branco	Reator Teste
1	106	123
2	135	157
3	168	248
4	197	298
5	222	333
6	248	398
7	274	432
8	297	499

Fonte: Autoria própria, 2016

Anexo A 10 - Coliformes Termotolerntes (UFC/100ml)

Reator Branco

Amostra	Afluente	Efluente	Eficiência %
1	9.300.000	9.200.000	1,1%
2	130.000	120.000	7,7%
3	990.000	980.000	1,0%
4	2.300.000	2.500.000	-8,7%
5	1.600.000.000	1.500.000.000	6,3%
6	19.000.000	16.000.000	15,8%
7	18.000.000	16.000.000	11,1%
8	1.100.000	1.000.000	9,1%

Fonte: Autoria própria, 2016

Anexo A 11 – Coliformes Termotolerntes (UFC/100ml)
Reator Teste

Amostra	Afluyente	Efluente	Eficiência %
1	9.300.000	8.800.000	5,4%
2	130.000	98.000	24,6%
3	990.000	790.000	20,2%
4	2.300.000	1.600.000	30,4%
5	1.600.000.000	1.100.000.000	31,3%
6	19.000.000	9.800.000	48,4%
7	18.000.000	13.000.000	27,8%
8	1.100.000	670.000	39,1%

Fonte: Autoria própria, 2016

Anexo A 12 - Nitrogênio Total (mg/l) – Reator Branco

Amostra	Afluyente	Efluente	Eficiência %
1	84,0	82,0	2,4%
2	79,4	79,0	0,6%
3	83,1	80,8	2,7%
4	100,2	97,3	2,9%
5	129,2	125,5	2,8%
6	54,2	52,8	2,6%
7	79,2	77,9	1,6%
8	98,2	96,4	1,8%

Fonte: Autoria própria, 2016

Anexo A 13 – Nitrogênio Total (mg/l) - Reator Teste

Amostra	Afluyente	Efluente	Eficiência %
1	84,0	81,1	3,5%
2	79,4	78,4	1,3%
3	83,1	78,5	5,5%
4	100,2	95,5	4,7%
5	129,2	121,8	5,7%
6	54,2	51,1	5,7%
7	79,2	75,3	4,9%
8	98,16	93,2	5,1%

Fonte: Autoria própria, 2016

Anexo A 14 - Fósforo Total (mg/l) – Reator Branco

Amostra	Afluyente	Efluente	Eficiência %
1	17,50	17,39	0,6%
2	16,55	16,38	1,0%
3	15,98	15,83	0,9%
4	20,88	20,64	1,1%
5	21,53	21,33	0,9%
6	13,55	13,47	0,6%
7	15,23	15,17	0,4%
8	20,45	20,41	0,2%

Fonte: Autoria própria, 2016

Anexo A 15 – Fósforo Total (mg/l) - Reator Teste

Amostra	Afluente	Efluente	Eficiência %
1	17,50	17,23	1,5%
2	16,55	16,35	1,2%
3	15,98	15,72	1,6%
4	20,88	19,98	4,3%
5	21,53	21,02	2,3%
6	13,55	13,01	4,0%
7	15,23	14,76	3,1%
8	20,45	19,83	3,0%

Fonte: Autoria própria, 2016

ANEXO B – Autorização para experimento



Porto Alegre 02 de dezembro de 2015

AUTORIZAÇÃO

A **MILLENNIUM TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA**, sociedade sediada no Município do Porto Alegre, Estado de Rio Grande do Sul, na Avenida A. J. Renner nº 1426, Bairro Humaitá, inscrita no CNPJ/MF sob o nº 03.625.129/0001-83, por seu representante legal, Sr. **Eduardo Ruga**, autoriza o Sr. **Carlos Eduardo Mauer** para:

- realizar experimentos com os produtos da linha Enzilimp em nossa empresa;
- ao livre acesso as áreas da empresa no que se refere a execução dos trabalhos propostos, tais como; sala de experimento, laboratório de micro, laboratório de análises físico-químicas, departamento técnico e departamento de P&D;
- utilizar as quantidades de produtos necessárias para realização do projeto;
- o acesso aos resultados de análises que serão realizadas, bem como a comunicação com os profissionais da empresa envolvidos no acompanhamento deste trabalho.

Sem mais no momento,

Atenciosamente,

MILLENNIUM TEC. AMBI. LTDA.
Eduardo Ruga - Diretor

Millennium Tecnologia Ambiental Ltda
Eduardo Ruga – Diretor Comercial

ANEXO C – Registros ANVISA e IBAMA

09/12/2015

Consulta de Produto

Ministério da Saúde

Agência Nacional de Vigilância Sanitária
www.anvisa.gov.br

Consulta de Produtos

Institucional Anvisa Divulga Serviços Áreas de Atuação Legislação

Espaço Cidadão Profissional de Saúde Setor Regulado

Detalhe do Produto : ENZILIMP SN

Nome da Empresa:	MILLENNIUM - TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA		
CNPJ:	03.625.129/0001-83	Autorização:	3023859
Produto:	ENZILIMP SN		
Categoria:	PRODUTO BIOLÓGICO		
Registro:	323850006		
Processo:	25351.713374/2010-24		
Vencimento do Registro:	02/2021		

Rótulo

[Visualizar 2º rótulo](#)

Apresentação ATIVA	Forma Física	Nº Apres.	Data de Publicação
SACO PLASTICO	SOLIDO	1	10/01/2011
Validade:	12 meses	Registro:	3238500060017
Princípio Ativo:			
Embalagem:	SACO PLASTICO - Primária		
Local de Fabricação:	Fabricantes Nacionais MILLENNIUM - TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA - BRASIL Fabricantes Internacionais [sem dados cadastrados]		

VOLTAR

SIA, Trecho 5, Área Especial 57, Bloco B, Térreo Brasília -DF - CEP: 71205-050 - Central de Atendimento Anvisa - 0800 642 9782

Copyright © ANVISA. Todos os direitos reservados.



SERVICO PÚBLICO FEDERAL
 SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
 MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
 INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS
 DIRETORIA DE QUALIDADE AMBIENTAL
 COORDENAÇÃO GERAL DE AVALIAÇÃO E CONTROLE DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS
 SCEN, Trecho 2, Edifício Sede do Ibama - CEP 70818-900 - Brasília/ DF
 Tel. (61) 3316-1310 – Fax: (61) 3316-1355 - www.ibama.gov.br

O INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, DE ACORDO COM A RESOLUÇÃO CONAMA Nº 463, DE 29/07/2014, CERTIFICA QUE SE ENCONTRA REGISTRADO O PRODUTO ABAIXO DESCRITO.

NOME COMERCIAL DO PRODUTO ENZILIMP SN	Nº DE REGISTRO 1627/12-45	VALIDADE DO REGISTRO 3 anos a partir da data de emissão												
- Empresa Titular de Registro, Formuladora e Importadora: MILLENIUN TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA Av. A.J. Renner, 1426 – Bairro Humaitá 90250-000 – Porto Alegre/RS CNPJ: 03.625.129/0001-83 Fone: (51) 3076-0700		- Empresa Fabricante: AMERICAN LABORATORIES INCORPORATED South 102 nd Street, 4410 Omaha/ Nebraska - EUA												
- Tipo de formulação: Produto em pó														
- Finalidade de registro: exportação, formulação e comercialização.														
- Forma de comercialização: venda direta ao consumidor e distribuidor autorizado.														
- Indicações de uso: Uso exclusivo como biorremediador para tratar estações de tratamento de esgoto sanitário (tanques/reatores e filtros biológicos, lagoas de estabilização, elevatórias, fossas sépticas e caixas de gordura), em redes coletoras, superfícies de áreas públicas (viadutos, escadarias, praças, parques ruas ou locais de eventos) e corpos d'água (reservatórios onde ocorre o armazenamento de águas residuárias, por força natural ou não, tal como bacias de contenção de água pluvial), com o objetivo de biodegradação dos efluentes de esgoto sanitário; redução da DQO, da DBO, óleos e graxas de origem animal e vegetal e de sólidos suspensos totais; redução de odores fétidos; redução de lodo em locais assoreados; desobstrução de dutos de redes coletoras; limpeza de superfícies de áreas públicas com excesso de carga orgânica e recuperação de ambientes de corpos d'água com excesso de carga orgânica.														
- Formas de aplicação autorizadas: diluição na proporção de 20 gramas de produto para cada 0,5 Litros de água. A dosagem, frequência e modo de uso serão de acordo com o modelo de rótulo aprovado.														
- Restrições de uso (situações onde não se recomenda o uso do produto) – na presença de agentes oxidantes fortes, agentes redutores, ácidos e bases fortes, cloro e bactericidas, isto é, qualquer material tóxico que possa inativar as culturas bacterianas; efluentes com baixa biodegradabilidade e com pH abaixo de 6,5 ou acima de 8,5.														
- Embalagens autorizadas:														
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Embalagem Primária</th> <th>Material</th> <th>Capacidade</th> <th>Embalagem Secundária</th> <th>Material</th> <th>Capacidade</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Saco</td> <td>Plástico</td> <td>3, 10 e 20 kg</td> <td>Barrica</td> <td>Papelão</td> <td>3, 10 e 20 kg</td> </tr> </tbody> </table>	Embalagem Primária	Material	Capacidade	Embalagem Secundária	Material	Capacidade	Saco	Plástico	3, 10 e 20 kg	Barrica	Papelão	3, 10 e 20 kg		
Embalagem Primária	Material	Capacidade	Embalagem Secundária	Material	Capacidade									
Saco	Plástico	3, 10 e 20 kg	Barrica	Papelão	3, 10 e 20 kg									
COMPOSIÇÃO QUALI-QUANTITATIVA: Ingrediente ativo: <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Bacillus licheniformis</i>2,0% Outros ingredientes:98,0%														

OBSERVAÇÃO: Este certificado de registro não é garantia de livre utilização do produto. O uso de remediador depende de prévia autorização do órgão ambiental competente, conforme Art. 4º da Resolução CONAMA nº 463, de 29/07/2014.

Brasília, 18 de abril de 2016.

Márcio Rosa Rodrigues de Freitas
 Diretor de Qualidade Ambiental