



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA**

MATEUS PIROLI

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE SULFETO DE
HIDROGÊNIO DE BIOGÁS PROVINDO DA DIGESTÃO DE
EFLUENTES SUINÍCOLAS UTILIZANDO BIOFILTRO EM
ESCALA PILOTO**

**FLORIANÓPOLIS
2016**

Mateus Pirolli

**Avaliação da remoção de sulfeto de hidrogênio de biogás
provindo da digestão de efluente suínico utilizando biofiltro em
escala piloto**

Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina, para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Moreira Soares

Coorientador: Dr. Marcio Luis Busi da Silva

Florianópolis
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Pirolli, Mateus

Avaliação da Remoção de Sulfeto de Hidrogênio de Biogás Provido da Digestão de Efluente Suinícola Utilizando Biofiltro em Escala Piloto / Mateus Pirolli; orientador, Hugo Moreira Soares ; coorientador, Marcio Luis Busi da Silva. – Florianópolis, SC; 2016.

83 PG.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Inclui referências

1. Engenharia Química. 2. biodessulfurização. 3. biofiltro. 4. Hidrogenotrofia. 5. Metano. I. Soares, Hugo Moreira. II. da Silva, Marcio Luis Busi. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. III. Título.

**Avaliação da Remoção de Sulfeto de Hidrogênio de Biogás
Provindo da Digestão de Efluentes Suinícolas Utilizando Biofiltro
em Escala Piloto**

por

Mateus Pirolli

Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Química**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos Químicos e Biotecnológicos** e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Prof. Dr. Hugo Moreira Soares
orientador

Dr. Marcio Luis Busi da Silva
coorientador

Prof^a. Dr^a. Cíntia Soares
Coordenadora

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Humberto Jorge José

Prof. Dr. Airton Kunz

Dr^a. Estela de Oliveira Nunes
(videoconferência)

Florianópolis, 17 de maio de 2016.

AGRADECIMENTOS

Quero primeiramente agradecer a DEUS que com a ajuda dele eu tive forças para chegar ao final dessa pequena jornada.

Aos meus pais, Vilmar e Edite Pirolli, ambos são responsáveis por cada sucesso obtido e cada degrau avançado. Durante todos esses anos foram grande exemplo de força, de coragem, perseverança e energia infinita para nunca desistir diante do primeiro obstáculo encontrado.

A UFSC e a EMBRAPA, pela a oportunidade que me foi concedida, tornando possível a realização desse trabalho.

Aos meus irmãos Filipe e Rafael, muito obrigado pelo apoio.

Ao professor orientador Dr. Hugo Moreira Soares, pela orientação e ensinamentos transmitidos ao longo deste período.

Ao coorientador Dr. Marcio Luis Busi da Silva e à Dra. Melissa Mezzari, pelo aprendizado, incentivo e ajuda no desenvolvimento deste projeto.

A todos os meus estimados colegas e amigos do Laboratório de Experimentação e Análises Ambientais - LEAA da Embrapa Suínos e Aves pelo auxílio e companheirismo, em especial Lidimara Suzin pela amizade, apoio, motivação, parceria, comprometimento profissional e alegrias proporcionadas.

Aos amigos do Laboratório de Tratamento Biológico de Resíduos - LTBR da UFSC, pela companhia e apoio durante a realização das disciplinas e análises.

A Eletrosul que contribuiu como financiadora dessa pesquisa.

A todos, simplesmente MUITO OBRIGADO.

RESUMO

O tratamento anaeróbio de efluentes da suinocultura, águas residuárias ricas na presença de sulfato, podem gerar sulfeto de hidrogênio (H_2S). A utilização típica do biogás gerado rico em energia requer antecedente remoção de compostos de enxofre para processos de recuperação de energia para evitar problemas de corrosão em motores de combustão, bem como para a saúde humana e a proteção do ambiente. Desse modo, a aplicação em escala piloto de um biofiltro do tipo *biotrickling* (BTF), simples e de baixa manutenção, em escala piloto, para dessulfurização de biogás derivado do tratamento anaeróbio de água residuária de suinocultura e com a capacidade de aumento nas concentrações de biometano, foi investigada. Como meio de cultura dos microrganismos, o BTF foi continuamente alimentado com efluente de águas residuais provenientes de um biorreator de lodos ativados (nitrificação-desnitrificação) instalado a jusante de um biodigestor anaeróbio tipo *UASB*. A eficiência máxima de remoção do BTF foi de 99,8% obtida com uma capacidade de eliminação máxima (CE) de $4,80 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Médias de CE obtidas com as vazões de entrada do fluxo de biogás de $0,024$, $0,036$ e $0,048 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ foram de $2,26$; $3,26$ e $1,35 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectivamente. As formas SO_4^{-2} e S^0 foram os principais metabólitos produzidos a partir da conversão biológica de H_2S . Adicionalmente à capacidade biodessulfurização satisfatória, um aumento médio da concentração de metano de $\cong 3,8 \pm 1,68 \text{ g m}^{-3}$ foi medida no fluxo de gás filtrado ao longo de 200 dias de operação do BTF. Análises TR-PCR das comunidades *archaeas* no biofilme confirmaram dominância de *archaeas* metanogênicas hidrogenotróficas, corroborando com forte correlação observada entre a remoção de CO_2 e produção de CH_4 . Entre as três principais ordens *archaeas* investigadas (*Metanosarcinales*, *Metanobacteriales* e *Metanomicrobiales*), *Metanobacteriales* foram encontradas em concentrações mais elevadas ($1,9 \times 10^{11}$ cópias de genes mL^{-1}). O BTF proposto foi robusto, removendo eficientemente H_2S do biogás concomitantemente, aumentando a concentração de biometano como fonte valiosa de combustível renovável.

Palavras-chave: biodessulfurização, biofiltro, hidrogenotrofia, metano, TR-PCR.

ABSTRACT

Anaerobic treatment of concentrated swine wastewater, which is sulfate-rich wastewater, can generate hydrogen sulfide (H_2S). Usage of the generated energy-rich gas requires the removal of sulfur compounds before energy recovery processes for avoiding problems of corrosion in combustion engines as well as for human health and environmental protection. The application of a simple and low maintenance field-scale biotrickling filter (BTF) for desulfurization of swine wastewater-derived biogas stream that was also capable of increasing biomethane concentrations was investigated. As the culture medium of the microorganisms, the BTF was continuously fed with wastewater from an air sparged nitrification-denitrification bioreactor, installed down gradient from an UASB-type digester. BTF maximum removal efficiency of 99.8% was achieved with a maximum elimination capacity (EC) of $4.80 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Average EC obtained with inlet biogas flow rates of 0.024, 0.036 and $0.048 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ was 2.26; 3.26 and $1.35 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectively. SO_4^{2-} and S^0 were the major metabolites produced from biological conversion of H_2S . Additionally to the satisfactory biodesulfurization capacity, an average increase in methane concentration of $\cong 3.8 \pm 1.68 \text{ g m}^{-3}$ was measured in the filtered gas stream throughout 200 days of BTF operation. RT-PCR analyses of archaea communities in the biofilm confirmed dominance of hydrogenotrophic methanogens thus corroborating with observed strong correlation between CO_2 removal and CH_4 production. Among the three major archaeas orders investigated (i.e., *Methanosarcinales*, *Methanobacteriales*, and *Methanomicrobiales*), *Methanobacteriales* were encountered at highest concentrations ($1.9 \times 10^{11} \text{ gene copies mL}^{-1}$). The proposed BTF was robust efficiently removing H_2S from biogas stream while concomitantly enhancing the concentration of valuable methane as source of renewable fuel.

Keywords: biodesulphurization, biotrickling filter, hydrogenotrophic, methane, RT-PCR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Ciclo global do enxofre.....	29
Figura 2- Ciclo do enxofre e seus estados de oxidação.....	30
Figura 3- Representação esquemática do ciclo biológico do enxofre. Bactérias redutoras de sulfato (incolores, púrpuras e verdes). 2 – Bactérias redutoras de sulfato.....	31
Figura 4- Representação esquemática de um processo de biofiltração.....	34
Figura 5- Fluxograma do processo de tratamento de efluentes na ETDS da Embrapa Suínos e Aves.....	41
Figura 6- Esquema do biorreator BTF. (1) entrada de biogás; (2) do reservatório de águas residuais; (3) bomba peristáltica; (4) de entrada de águas residuais; (5) saída de águas residuais; (6) saída biogás purificado; (7) termômetro; (8) biorreator.....	39
Figura 7- Reator anaeróbio UABS (A) e Reator biológico de lodos ativados RBLA (B). Fontes de biogás e meio de nutrientes, respectivamente.....	42
Figura 8- Perfil do início da atividade de produção de metano após 12 dias de aclimação do BTF.....	52
Figura 9- Concentrações de H ₂ S medidos na entrada (entrada) e saída (saída) do BTF juntamente com a eficiência de remoção estimada (ER). Vazões de biogás de entrada (Q) de 0,024 (I), 0,036 (II) e 0,048 m ³ .h ⁻¹ (III), foram testados.....	55
Figura 10 - Correlação entre taxa de aplicação de entrada H ₂ S e capacidade de eficiência de remoção H ₂ S (CE), pelo biofiltro ao longo de 200 dias de operação.....	59
Figura 11- Perfil de concentrações de sulfato, nitrato, nitrito e acetato na solução de nutrientes ao longo do tempo. Dados adquiridos após 115 dias de operação biofiltro.....	61
Figura 12- Variações de pH e concentração de oxigênio dissolvido na entrada e saída do biofiltro ao longo do tempo de amostragem.....	61
Figura 13- Representação visual do meio de nutrientes do BTF ao longo de 6 dias.....	63
Figura 14 - Perfil das concentrações de metano medidas na entrada e na saída do biofiltro ao longo de 200 dias de operação contínua do BTF.....	65
Figura 15- Correlação entre a produção cumulativa de C-CH ₄ e remoção de C-CO ₂ ao longo de 200 dias de operação contínua do BTF.....	65
Figura 16 - Número médio de cópias dos genes de metanogênicas acetoclásticas (<i>Methanosarcinales</i>) e hidrogenotróficas	

<i>(Methanobacteriales e Methanomicrobiales)</i> , desenvolvidas no biofilme do BTF após 140 dias de aclimação do sistema.....	67
Figura 17- Perfil da concentração de amônia na solução de alimentação de águas residuárias ao longo do tempo. Dados adquiridos após 115 dias de operação biofiltro.....	71
Figura 18- Perfil da concentração de carbono orgânico e inorgânico total.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Caracterização do efluente utilizado.....	45
Tabela 2- Medições de RNA para a determinação da sua integridade e quantidade. Os dados apresentados são para quatro amostras selecionadas aleatoriamente.....	47
Tabela 3 – Iniciadores de qPCR 16S rRNA Transcriptase reversa quantitativa em tempo real TR-PCR, sequências iniciadoras e tamanho dos fragmentos.....	41
Tabela 4- Características e condições operacionais do BTF.....	54
Tabela 5- Capacidade de eliminação e eficiência de remoção sulfeto de hidrogênio por diferentes tipos biofiltro e condições experimentais.....	57
Tabela 6- Diferentes vazões de biogás, capacidade de eliminação e eficiência de remoção.....	60
Tabela 7- Reações de oxidação de sulfeto por sulfobactérias quimiolitotróficas.....	63
Tabela 8- TR-PCR número de cópias de genes por mL com iniciadores destinados a detectar as ordens <i>Methanobacteriales</i> (MBT), <i>Methanomicrobiales</i> (MMB) e <i>Methanosarcinales</i> (MSL).....	70

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	OBJETIVOS	23
1.1.1	Objetivo Geral.....	23
1.1.2	Objetivos Específicos.....	23
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1	SUINOCULTURA E MEIO AMBIENTE	25
2.2	DIGESTÃO ANAERÓBIA	26
2.3	BIOGÁS	27
2.4	SULFETO DE HIDROGÊNIO (H ₂ S)	27
2.4.1	Oxidação microbiológica H ₂ S.....	30
2.4.2	Processos de tratamento de gás sulfídrico.....	32
2.5	PROCESSOS BIOLÓGICOS PARA REMOÇÃO DE H ₂ S	33
2.5.1	Biofiltragem	33
2.6	COMUNIDADE MICROBIOLÓGICA	36
3	MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1	ESTAÇÃO DE TRATAMENTOS DE DEJETOS SUÍNOS DA EMBRAPA SUINOS E AVES (ETDS).....	39
3.2	APARATO EXPERIMENTAL (BIOFILTRO BIOTRICKLING)....	40
3.3	MEIO DE NUTRIENTES E ALIMENTAÇÃO.....	42
3.4	MÉTODOS ANALÍTICOS	43
3.4.1	Análises dos gases.....	43
3.4.2	Determinação de Nitrogênio Amoniacal Total	43
3.4.3	Determinação de Nitrito, Nitrato, Acetato, sulfato e Fosfato.....	43
3.4.4	Determinação de enxofre elementar.....	43

3.4.5	Determinação de carbono total.....	44
3.4.6	Determinação da Temperatura, Oxigênio Dissolvido e pH.....	44
3.4.7	Determinação de turbidez e sólidos totais, voláteis e fixos.....	44
3.4.8	Extração de RNA	45
3.4.9	TR-PCR quantitativo em tempo real	46
3.4.10	Curvas padrão de DNA recombinante.....	48
3.5	CAPACIDADE DE REMOÇÃO DE H ₂ S PELO BTF.....	49
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE (ÁGUA RESIDUÁRIA).....	51
4.2	ACLIMATAÇÃO DOS MICRORGANISMOS	52
4.3	BIODESSULFURIZAÇÃO DO FLUXO DE BIOGÁS	53
4.3.1	Efeito da concentração de H ₂ S.....	53
4.4	INCREMENTO NA PRODUÇÃO DE METANO	64
4.4.1	Efeito na concentração de CO ₂	66
4.4.2	Estrutura da comunidade metanogênica.....	68
5	CONCLUSÃO	73
6	REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

Águas residuárias da pecuária, em particular os efluentes provenientes da produção suinícola, possuem altas concentrações de matéria orgânica biodegradável e nitrogênio amoniacal. A digestão anaeróbia é convencionalmente utilizada para reduzir essas cargas orgânicas (ANCENO et al., 2009) e simultaneamente produzir biometano, uma valiosa fonte de combustível renovável.

O biogás é composto por 55-75% de metano (CH_4), 20-35% de dióxido de carbono (CO_2) e de sulfeto de hidrogênio (H_2S) 3.000-5.000 ppmv (KAO et al., 2012), bem como uma variedade de contaminantes tais como enxofre, silício, halogêneos e compostos voláteis orgânicos como silanos e siloxanos (DE ARES PACOCHAGA et al., 2014). Entre estes gases, o H_2S merece maior atenção devido aos seus odores, toxicidade e características altamente corrosivas (DÍAZ; RAMOS; FDZ-POLANCO, 2015). A remoção de H_2S presente no biogás é necessária a fim de evitar danos dispendiosos para infraestrutura geral de usinas de geração de energia.

Diferentes métodos estão disponíveis para remoção de H_2S de fluxos de gás incluindo métodos físico-químicos, ou seja, a absorção química, a adsorção, a separação criogênica ou a oxidação a seco (KAO et al., 2012), e processos biológicos, por exemplo a biofiltração (CHUNG et al., 2010; KENNES; RENE; VEIGA, 2009; REHMAN; FAROOQI; AYUB, 2010). Biofiltração é considerada como tecnologia que apresenta relação custo-benefício elevada e ambientalmente amigável (ARELLANO-GARCÍA et al., 2009). Eficiências de remoção biológica de H_2S >98% têm sido reportadas extensivamente em escala de laboratório, utilizando bactérias de metabolismo específico (RATTANAPAN; OUN SANEHA, 2012) (RAMÍREZ et al., 2009). Numerosas bactérias cultiváveis são conhecidas por oxidar compostos de enxofre como *Thiobacillus* (BARBOSA et al., 2006), *Thiomicrospira*, *Thiosphaera*, *Sulfolobus*, *Thiomonas*, *Thiobacterium*, *Macromonas*, *Thiospira*, *Pseudomonas* (OMRI et al., 2011), *Alcaligenes*, *Hyphomicrobium*, *Xanthomonas* e *Paracoccus* (TANG; BASKARAN; NEMAT, 2009).

Considerando que a utilização de biofiltros têm sido amplamente relatadas (LEE et al., 2013)(RABBANI et al., 2015), a maior parte da informação disponível é voltada para demonstrar mecanismos para aumentar a eficiência e desempenho dos sistemas. Neste caso, através do uso de inóculo de microrganismos específicos

com capacidades metabólicas desejáveis, ou formulações de nutrientes exclusivas que contêm nitrato ou oxigênio como aceptores finais de elétrons. Infelizmente, a maioria das empresas agrícolas está localizada em lugares remotos onde o acesso a cepas bacterianas específicas necessárias para a inoculação do sistema operacional e *start up* pode ser dificultado. Além disso, a técnica de bioaugmentação, usando microrganismos exógenos, pode levar a eficiências de remoção de H_2S insatisfatórias, devido a diferentes condições ambientais e de crescimento que possam interferir com a bactéria, aclimação e atividades metabólicas associadas (DA SILVA AND ALVAREZ, 2010).

O uso de meios de cultura sintéticos, podem também acarretar um impacto adverso nos custos operacionais e de manutenção. Foi demonstrado em trabalho prévio que o uso de águas residuais domésticas como meios de crescimento e nutrientes podem ser utilizadas alternativamente, como solução de nutrientes para biodessulfurização de biogás, com resultados promissores (DE ARESPACOCCHAGA et al., 2014). Da mesma forma, a remoção de H_2S também poderia ser obtida utilizando águas residuais da suinocultura como meio de cultivo, através do uso de biofiltros (*biotrickling*) (SU, CHEN, CHANG e 2014). No entanto, ambos os sistemas de escala piloto usando efluentes de águas residuais (domésticas e suinocultura) foram previamente inoculados com bactérias oxidantes de H_2S específicas, e suplementadas com uma fonte externa de aceptores de elétrons, através de injeção de oxigênio. Portanto, não se sabe se somente o uso de águas residuais só poderia fornecer fontes suficientes de aceptores de elétrons (ou seja, NO_3 , NO_2), bem como bactérias nativas oxidantes de H_2S para uma biodessulfurização bem sucedida.

A manutenção de condições anóxicas, ou mesmo microaerófilas, no interior do biofiltro poderia permitir a proliferação de bactérias metanogênicas e/ou acetoclásticas hidrogenotróficas (MOESTEDT, NILSSON, PÅLEDAL, SCHNÜRER e 2013). Essas interações microbianas no biofilme poderiam levar a uma produção incremental de metano simultaneamente com a dessulfurização, aumentando assim o valor e a aplicabilidade potencial do biogás filtrado. No entanto, a avaliação do potencial metabólico metanogênico em biofiltros *biotrickling* utilizados para dessulfurização de fluxo de biogás, ainda não foi explorada. Neste âmbito, análises de biologia molecular para avaliar a presença e a atividade de metanogênicas

acetoclásticas e/ou hidrogenotróficas em biofiltros, poderia ajudar nossa compreensão atual da ecologia microbiana nestes sistemas.

Portanto, os objetivos deste trabalho foram a aplicação de um biofiltro, simples e de baixa manutenção, para biodessulfurização, em escala de campo, e avaliar a sua eficiência para a remoção de H_2S do fluxo de biogás derivado da água residuária da suinocultura.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar em escala piloto o potencial de remoção biológica do gás sulfídrico por biofiltração do biogás, utilizando o efluente suinícola tratado como meio de cultura para os microrganismos.

1.1.2 Objetivos Específicos

- ✓ Testar o uso da água residuária tratada da suinocultura como meio de cultura e fonte de aceptores de elétrons para os microrganismos do biofiltro.
- ✓ Avaliar a carga máxima suportada pelo sistema em relação a vazão de biogás, afim de observar os efeitos da eficiência de remoção de H_2S .
- ✓ Investigar os efeitos na concentração de metano no processo de biofiltração.
- ✓ Determinar a presença de bactérias metanogênicas sobre o material suporte do sistema de biofiltração.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SUINOCULTURA E MEIO AMBIENTE

A produção de suínos no Brasil é uma atividade que ocupa posição de grande importância econômica, social e cultural. O Brasil é o sexto maior consumidor de carne suína e o quarto maior exportador do mundo. Anualmente são produzidas 100 milhões de toneladas (HIGARASHI, 2004).

A China responde por cerca da metade da produção mundial. O restante da produção é seguido pela União Européia (UE), Estados Unidos da América (EUA) e Brasil. Na última década, a participação do Brasil nas exportações saltou de 4% para 11% e o país se tornou o quarto maior produtor e exportador com 3% do mercado mundial (USDA, 2014).

Os principais polos produtores de carne suína encontram-se nos três estados da região Sul, seguidos pelos estados de Minas Gerais e São Paulo na região Sudeste e pela região Centro-Oeste. Dentre os oito maiores estados produtores de suínos, Santa Catarina é aquele de menor superfície, o que lhe atribui um índice de concentração da produção muito grande em relação aos demais. Um dos mais graves problemas ambientais ocasionados pela agropecuária origina-se nas dificuldades de manejo dos dejetos produzidos com a crescente concentração geográfica da produção animal e a sua intensificação por meio de sistemas de confinamento. Os dejetos oriundos da criação intensiva são armazenados em esterqueiras ou lagoas de tratamento, onde produzem metano, amônia e outros gases que provocam odores desagradáveis e contribuem para o comprometimento da qualidade do ar. A suinocultura é uma exploração pecuária concentradora de dejetos animais, possuidores de alta carga poluidora para o solo, o ar e a água (MATOS, 2006).

O lançamento de efluentes suínos não tratados no solo, rios e lagos, constituem um risco potencial para o aparecimento ou recrudescimento de doenças, desconforto na população (proliferação de insetos e mau cheiro) e degradação dos recursos naturais. Em Santa Catarina, Estado com alta concentração de suínos e com 82% do sistema de captação de água baseado em mananciais superficiais e 15% baseado em lençóis subterrâneos, o nível de contaminação destes recursos hídricos foi considerado alarmante, cerca de 90% (EMBRAPA, 2004).

Visando a qualidade do ar, os odores são os inconvenientes mais fortes, em virtude da fermentação da matéria orgânica contida nos dejetos, resultando na liberação de gás sulfídrico e a amônia que, além de poluírem o ar, tornam-se potencialmente tóxicos, quando acima de determinadas concentrações (200 ppmv). Quando o problema está relacionado com lançamento em corpos hídricos, torna-se maior, podendo causar desequilíbrio ecológico, devido à diminuição do oxigênio dissolvido na água e contaminação com elementos tóxicos. O aumento das atividades do agronegócio suíno é geralmente acompanhado por maiores volumes de águas residuais que requer tratamento adequado antes da aplicação em corpos de água (ASSIS, 2004; MACKIE, et al., 1998).

2.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA

A produção de suínos é caracterizada pela produção intensiva de suínos, o que gera quantidades de efluentes substanciais em pequenas áreas. Este resíduo possui altas concentrações de matéria orgânica, nutrientes e metais com grande potencial de poluição (STEINMETZ et al., 2009). Portanto, novas estratégias de gestão são necessárias quando comparados com os adotados atualmente, que são o armazenamento de efluentes e uso agrícola, especialmente em áreas com alta densidade de animais provindos da pecuária (KUNZ et al., 2009a). Várias alternativas estão disponíveis para o tratamento de efluentes com elevadas concentrações de matéria orgânica. Entre os tratamentos biológicos, a digestão anaeróbia de resíduos orgânicos biodegradáveis é, frequentemente, a mais aplicada e rentável, devido à recuperação de alta energia e baixo impacto ambiental. Além disso, configura-se como uma tecnologia muito competitiva, com grande aceitação por parte dos usuários devido a baixos custos de implantação, operação e manutenção, possibilitando a utilização do biogás produzido como uma fonte alternativa de energia e integração no mercado de carbono. O processo converte os resíduos orgânicos em biogás, uma mistura gasosa de cerca de 70% de CH_4 e 30% de CO_2 e traços de H_2S . A digestão anaeróbia da matéria orgânica é usada como um método adequado para o tratamento de resíduos biodegradáveis orgânicos e produção de energia a partir da combustão do biogás (LEE et al., 2009)(DÍAZ; RAMOS; FDZ-POLANCO, 2015). Dessa maneira, a eficiência do processo e a capacidade de aumentar a produção de metano, aumentam

significativamente o balanço econômico das plantas de tratamento de águas residuárias.

2.3 BIOGÁS

Entre as várias tecnologias de tratamento de efluentes, os sistemas de tratamento anaeróbios estão sendo incentivados por causa de diversas vantagens, incluindo baixos custos de construção, demanda de menores áreas, baixa produção de lodo, operação simples, baixa manutenção, e geração de energia na forma de biogás (SINGH et al., 2013).

A produção e utilização de biogás tem aumentado recentemente por este combustível representar uma valiosa fonte de energia renovável. A utilização do biogás produz uma redução indireta de emissões de gases de efeito estufa através da substituição de combustível fóssil (WEILAND, 2010).

O potencial de aquecimento global (GWP) indica o potencial de retenção de calor de um gás de efeito estufa na atmosfera. O GWP do gás metano (CH_4) é 25, ou seja, 25 vezes mais potente que o CO_2 em causar o aquecimento global (IPCC, 2007). Assim, a promoção da utilização de biogás ou de combustão pode ajudar a reduzir as emissões de gases de efeito estufa do setor agropecuário.

Plantas de geração de energia normalmente exigem que o biogás utilizado apresente uma concentração $< 280 \text{ mg.m}^{-3}$ de H_2S . O processo de tratamento anaeróbio de águas residuais da produção de papel pode produzir concentrações de H_2S de 42 g.m^{-3} (SCHIEDER et al., 2003), enquanto que a de biogás a partir de tratamento anaeróbio de águas residuais da suinocultura no Brasil, já encontradas na literatura foram de até $5,43 \text{ g.m}^{-3}$ (PIROLI et al., 2016). Portanto, a combustão de biogás contendo H_2S pode diminuir a vida útil da infraestrutura para geração de calor e, especialmente, a geração de energia.

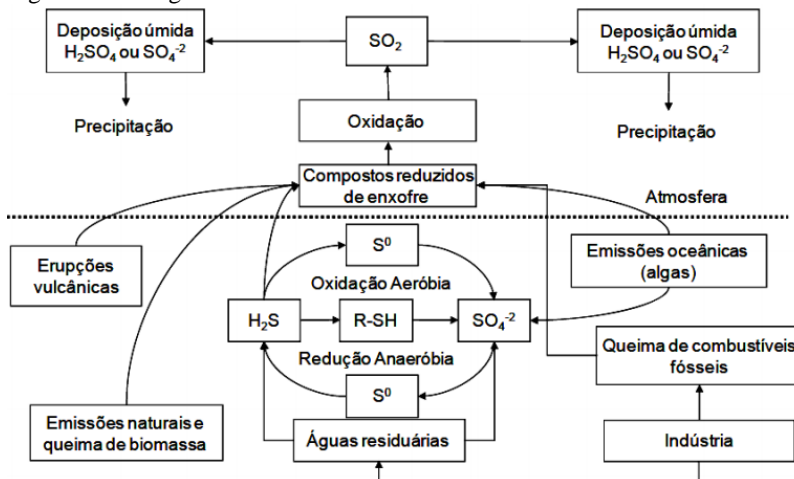
2.4 SULFETO DE HIDROGÊNIO (H_2S)

O sulfeto de hidrogênio ocorre naturalmente nos gases de vulcões, fontes de enxofre, respiradouros submarinos, pântanos, corpos de água estagnada em petróleo bruto e de gás natural e como um produto da degradação biológica da matéria orgânica. As

transformações de enxofre podem ser visualizadas de forma simplificada na Figura 1.

Os seres vivos oxidam e reduzem diferentes compostos de enxofre, inorgânicos e orgânicos, definindo um ciclo. A especificidade de atuação de grupos de microrganismos em oxidação ou redução de enxofre depende principalmente das condições ambientais (aeróbicas ou anaeróbicas), com variação do estado de oxidação do enxofre. Algumas espécies de microrganismos, como a bactéria *Thiobacillus denitrificans*, oxidam formas reduzidas a sulfato mesmo em condições de anaerobiose, com redução de nitrato a N_2 . Muitas espécies de fungos, bactérias e actinomicetos atuam no processo de mineralização do enxofre, utilizando a matéria orgânica como substrato para seu crescimento. Isto ocorre tanto em condições de aerobiose quanto de anaerobiose, tendo-se como produtos finais SO_4^{-2} e H_2S , respectivamente. Uma grande variedade de microrganismos é capaz de utilizar diferentes compostos sulfurosos, em diferentes estados de oxidação, presentes na natureza, fazendo com que o ciclo do enxofre apresente transformações oxidativas e redutivas. As bactérias oxidadoras de enxofre podem ser fototróficas, consumindo CO_2 como fonte de carbono para seu crescimento, quimiolitotróficas, também conhecidas como incolores, onde a oxidação de um composto sulfuroso (H_2S , tiosulfato ou enxofre elementar) gera a energia necessária para o crescimento desses microrganismos, ou ainda quimiolitoheterotróficos, o que determina o surgimento de uma ou outra espécie são as condições do meio (MADIGAN e tal., 1997).

Figura 1- Ciclo global do enxofre



Fonte: Adaptado de AMIM, 2008.

Tratamento anaeróbico de águas residuais da suinocultura, pode gerar sulfureto de hidrogênio (H_2S) como um subproduto no biogás. H_2S é produzido naturalmente durante a redução de compostos contendo enxofre orgânicos e sulfato por bactérias anaeróbias. É um gás tóxico, incolor, inflamável que é responsável pelo mau cheiro (ovos podres), um odor que é um grande incômodo e que estão presentes em águas residuais municipais, industriais e sistemas de tratamento biológico. Extremamente tóxico para os organismos e plantas vivas, este pode ser detectado facilmente atingindo o nível de 0-5 ppmv no ar. Em níveis superiores a 10 ppmv isso pode afetar a saúde humana, enquanto que em níveis acima de 600 ppmv podem causar morte.

Quantidades consideráveis de sulfeto de hidrogênio também são emitidas pelas atividades industriais, tais como refino de petróleo, celulose e fabricação de papel, tratamento de águas residuais, processamento de alimentos, criação de gado e de processamento de gás natural (LOMANS; POL; OP DEN CAMP, 2002).

O sulfeto de hidrogênio (H_2S) é extremamente tóxico para os organismos e plantas. Contaminação de gases com H_2S podem ser tratados por ambos os métodos químicos e físicos, mas eles têm elevados custos de capital, os quais exigem grandes quantidades de energia e resultam na produção de resíduos secundários perigosos. Como resultado, com base no custo de implantação e operação, acredita-

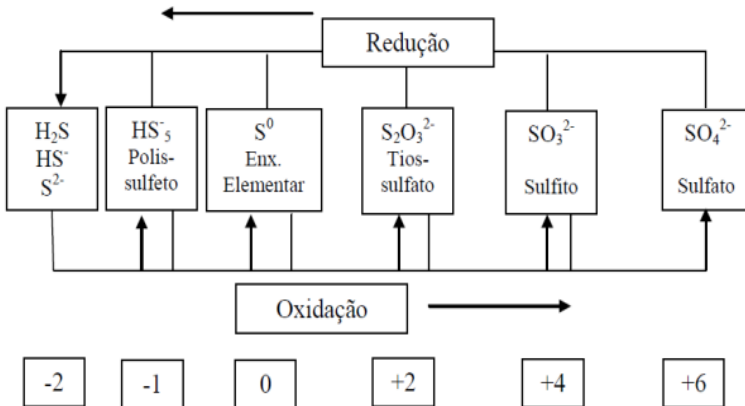
se que o tratamento biológico é a opção mais econômica para a remoção de sulfeto de hidrogênio.

2.4.1 Oxidação microbiológica H_2S

Extensivamente tem sido reportado que vários microrganismos são responsáveis pela oxidação do gás sulfídrico, a exemplo das bactérias oxidantes, incluindo *Thiobacillus*, *Xanthomonas* e *Pseudomonas*, que possuem um grande potencial para metabolizar H_2S efetivamente, pela sua baixa produção de ácido e a velocidade de oxidação rápida em carvão ativado (OMRI et al., 2011; TANG; BASKARAN; NEMATI, 2009).

Diante disso, pode-se observar na Figura 2, os diferentes estados de oxidação do enxofre em todas as etapas do seu ciclo. Nota-se que, o enxofre na sua forma mais reduzida (sulfeto de hidrogênio), é totalmente oxidado para a formação de sulfato (SO_4^{2-}), necessitando assim, de um doador de elétrons para a efetivação da reação.

Figura 2-Ciclo do enxofre e seus estados de oxidação.



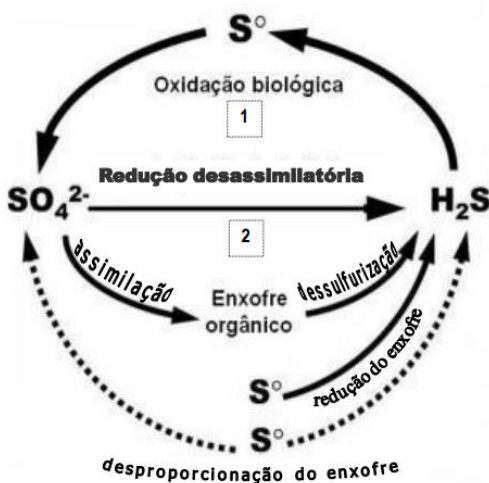
Fonte: AMIM, 2008.

Os poluentes mais comuns presentes na água residuária são os compostos contendo carbono orgânico, nitrogênio, enxofre e fósforo. Esses compostos são frequentemente retirados por meio de processo biológico combinado como a nitrificação, desnitrificação, a remoção de

fósforo e redução de sulfato. A desnitrificação autotrófica pode ser usada para remover nitrogênio, óxidos e compostos de enxofre, como uma alternativa interessante para desnitrificação heterotrófica de efluentes com altas concentrações de nitrato e de baixo teor de matéria orgânica (VAIOPOULOU; MELIDIS; AIVASIDIS, 2005).

Este processo é realizado por bactérias sulfurosas autotróficas como *Thiobacillus denitrificans*, que são capazes de utilizar os compostos de enxofre (S^{-2} , S^0 , $S_2O_3^{-2}$, $S_4O_6^{-2}$, SO_3^{-2} e SO_4^{-4}) como doadores de elétrons e nitrato como receptor de elétrons, sob condições anóxicas. Neste caso, o sulfeto de hidrogênio pode ser utilizado como doador de elétrons num sistema de pós-desnitrificação autotrófica (KLEEREBEZEM; MENDEZ, 2002). A transformação do enxofre é regida por reações de oxidação e redução, que são as responsáveis pelas conversões, as quais podem ser realizadas tanto por via química quanto biológica. Nos processos biológicos, várias espécies de microrganismos catalisam a oxidação e redução das diferentes formas de enxofre estabelecendo deste modo um ciclo. O esquema simplificado do ciclo biológico do enxofre com as reações fundamentais está apresentado na Figura 3.

Figura 3- Representação esquemática do ciclo biológico do enxofre. Bactérias redutoras de sulfato (incolores, púrpuras e verdes). 2 – Bactérias redutoras de sulfato.



Fonte: Adaptado de TANG *et al.* (2009).

Conforme figura 3, vários microrganismos podem mineralizar compostos de enxofre orgânico, por meio de vias metabólicas aeróbias e anaeróbias. Sob condições aeróbias, enzimas sulfatases são envolvidas na degradação de Ester de sulfato ($R - O - SO_3^-$) ao íon sulfato (SO_4^{2-}). A redução de sulfato pode ser assimilativa ou dissimilativa. A redução biológica dissimilativa é o processo pelo qual o sulfato ou outra forma oxidada de enxofre são utilizados como aceptores de elétrons na cadeia respiratória.

Particularmente, com relação ao sulfeto, este pode ser oxidado quimicamente ou biologicamente a enxofre elementar ou a sulfato (Figura 3 Lado 1) por uma variedade de microrganismos quimiolitotróficos e fototróficos. Por sua vez, o sulfato é reduzido novamente a sulfeto (Figura 3 Lado 2) por bactérias redutoras de sulfato (TANG et al., 2009).

2.4.2 Processos de tratamento de gás sulfídrico

Biogás contaminado por H_2S pode ser tratado por diferentes métodos, dos quais podemos citar: físicos, químicos e biológicos (BURGESS; PARSONS; STUETZ, 2001). Um número de processos físico-químicos, tais como oxirredução a seco (processo redox), processos redox líquidos e processo de adsorção líquida, são usualmente empregados para a dessulfurização de gases contendo H_2S . Existem também, inúmeras tecnologias atualmente disponíveis para a dessulfurização de biogás denominadas físico-químicas como: absorção e adsorção utilizando fases sólida e líquida, química melhorada (absorção química usando soluções oxidantes ou alcalino-terrosos, tais como aminas ou soda. Apesar de seu elevado custo com produtos químicos, altos custos de energia e de disposição dos resíduos, tecnologias físico-químicas são amplamente implementadas em escala industrial devido à serem tecnologias sedimentadas e com vasta experiência na operação. No entanto, estes processos possuem elevados custos de capital, exigem grandes quantidades de energia e resultam na geração de resíduos secundários perigosos (PANDEY; MALHOTRA, 1999).

Portanto, a remoção de H_2S do biogás, ou de outros combustíveis derivados de resíduos, é necessária, não apenas por razões de saúde e de segurança, mas por razões operacionais. Neste contexto, as tecnologias dispendiosas de remoção de H_2S e que consomem energia

devem ser instaladas a montante do sistema de conversão de energia, a fim de cumprir os respectivos requisitos de concentrações de entrada, sendo valores de 300-500 ppmv para motores de combustão interna (CHEN et al., 2016).

Desse modo, os esforços têm sido direcionados no sentido de utilizar processos biológicos para a remoção de contaminantes, que são caracterizadas por custos de capital e energia reduzidos.

Tecnologias de remoção de H_2S físico-químicas convencionais têm grande investimento e os custos operacionais, ao contrário, os tratamentos biológicos mostram perspectivas rentáveis muito promissoras para aumentar a eficácia da valorização energética de biogás (ABATZOGLOU; BOIVIN, 2009). Além disso, os processos biológicos têm o potencial para ultrapassar algumas desvantagens de tecnologias físico-químicas (SYED et al., 2006).

2.5 PROCESSOS BIOLÓGICOS PARA REMOÇÃO DE H_2S

2.5.1 Biofiltração

Os principais reatores biológicos para o tratamento de gases consistem em biofiltros e filtros do tipo *bioscrubbers* e *biotrickling*. Estes sistemas diferem na presença ou ausência de um material de suporte, tipo fase da biomassa (suspensa ou fixa), e o estado da fase líquida (fluxo ou estacionário).

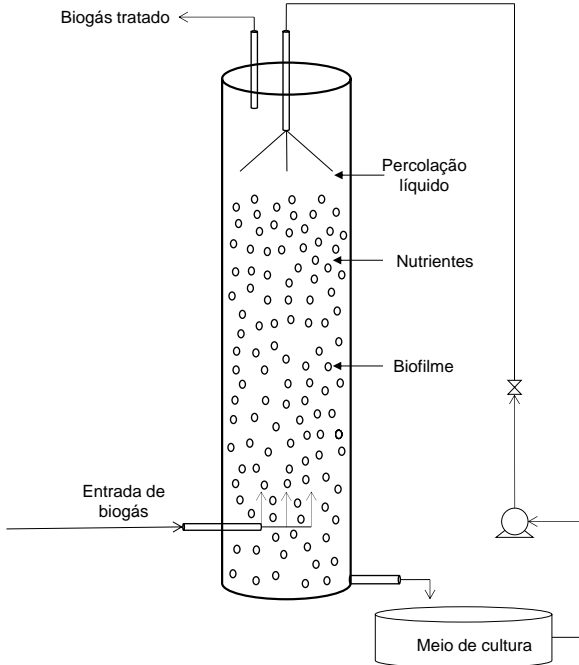
Os *bioscrubbers* consistem de um processo em duas fases: absorção química de H_2S com uma solução alcalina, seguida por um reator biológico para solução de regeneração sob aeração num reator tipo *air lift* (KENNES; RENE; VEIGA, 2009).

Um processo de biofiltração típico (*biotrickling*) é composto de duas fases (Figura 4): o poluente é transferido a partir de um fluxo de gás para dentro do líquido e adsorvido num suporte sólido (DUAN et al., 2007). O fluxo gasoso contaminado passa através do leito, sendo absorvido pelos microrganismos, ocorrendo a degradação dos compostos voláteis biodegradáveis em compostos menos nocivos (VAN GROENESTIJN; HESSELINK, 1993).

A biofiltração, é um processo pelo qual fluxos de gases contaminados passam através do biofiltro e poluentes são transportados para o biofilme, onde eles são utilizados por microrganismos como fonte de carbono, ou seja, uma fonte de energia. *Thiobacillus* sp. é a mais

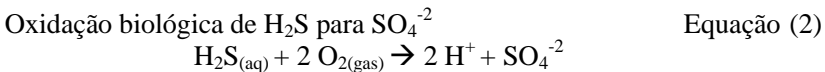
utilizada das espécies microbianas em biofiltração de H_2S e pode degradá-lo para obtenção de energia, produzindo sulfato (SO_4^{-2}), enxofre elementar (S_0) ou ainda ácido sulfúrico (H_2SO_4) (RATTANAPAN; OUNSA NEHA, 2012).

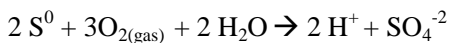
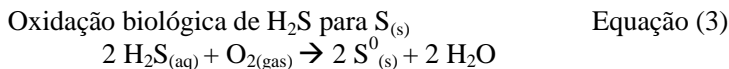
Figura 4- Representação esquemática de um processo de biofiltração.



Fonte: O autor

O mecanismo proposto para remoção de H_2S vem a ocorrer através de uma série de processos físico-químicos e reações biológicas, que são resumidas pelas Equações 1, 2, 3 e 4 (GIJS KUENEN, 1975):





Todos os quatro processos resultam em modificações de pH, oxigênio dissolvido e potenciais oxidação-redução (ORP), que podem ser utilizados para monitoramento e controle de desempenho do processo. Outras reações, tais como a oxidação não-biológica de H_2S para tiosulfato e a continuação da oxidação biológica de tiosulfato para ácido sulfúrico, também têm sido relatadas, mas que são de menor relevância (FORTUNY et al., 2008).

2.5.1.1 Meio de nutrientes

Fontes de carbono, de energia e nutrientes, tais como nitrogênio, fósforo, e oligoelementos, são necessários para o crescimento microbiano. Normalmente, estes compostos são adicionados sob a forma de reagentes comerciais, o que onera o processo. Uma forma alternativa de adição de nutrientes essenciais ao crescimento dos microrganismos é a utilização de um efluente de uma estação de tratamento de águas residuais, que, dependendo do substrato e do processo utilizado, poderá suprir estas fontes nutricionais (KENNES; RENE; VEIGA, 2009). Além disso, a seleção de meios para fonte de nutrientes para biofiltração, combinando meio natural e sintético, é um passo importante para o desenvolvimento de uma operação bem-sucedida.

Como já conhecido e reportado, a água residuária de suinocultura é caracterizada por conter altas concentrações de matéria orgânica biodegradável e nitrogênio amoniacal, além de micro e macro nutrientes como fósforo, potássio, cálcio, magnésio, zinco, cobre, entre outros (ANCENO et al., 2009). Mesmo após os tratamentos aplicados ao efluente, níveis elevados de nitrogênio amoniacal ainda estão presentes no efluente digerido, bem como outros nutrientes (LIWEI et al., 2011). Estas características apontam ainda fonte de alimento para diferentes microrganismos tais como plantas, bactérias, fungos, protozoários, que podem desenvolver-se em condições específicas (DENG et al., 2009).

2.6 COMUNIDADE MICROBIOLÓGICA

Os biofilmes podem compreender uma única ou várias espécies microbianas e podem formar uma variedade de superfícies bióticas e abióticas. Estudos indicam que os biofilmes são um ponto estável em um ciclo biológico que inclui: a ligação bacteriana a uma superfície, formação da microcolônia, maturação biofilme e descolamento e/ou dispersão de bactérias que podem, em seguida, colonizar novas áreas. As bactérias iniciam o desenvolvimento de biofilme em resposta a estímulos ambientais específicos, como a disponibilidade de nutrientes, por exemplo. As superfícies bacterianas são heterogêneas, sendo que podem mudar drasticamente em resposta a mudanças no seu ambiente. Portanto, uma bactéria não pode ser modelada com precisão como uma esfera, com uma superfície uniforme (CROUZET et al., 2014).

A fixação microbiana num meio suporte depende de uma série de fatores tais como as propriedades físico-químicas das células, o tipo de material de preenchimento, a composição química da fase líquida e as características específicas dos microrganismos. O processo de adesão é iniciado a partir de uma camada de acondicionamento de resíduos (carbono orgânico adsorvido no meio de suporte umedecido). Para as bactérias, a formação de um biofilme é controlada por uma sinalização intracelular e é dominada por espécies de crescimento rápido. Se uma comunidade microbiana é empregada como fonte de inóculo, seria de se esperar, como no tratamento de águas residuárias, que as bactérias que tendem a dominar em termos de atividade e as espécies individuais que estratificam o biofiltro com altas densidades populacionais desenvolvidas próximas da entrada de gás, predominem no biofiltro (SONG; SHIN; HWANG, 2010).

Através de métodos convencionais e do perfil fisiológico de uma cultura mista de microrganismos pode-se chegar ao conhecimento das populações e genes catabólicos envolvidos em diferentes comunidades microbiológicas de biofiltração. Outras possíveis maneiras de identificação de espécies têm sido particularmente avaliadas através de métodos moleculares (desnaturação com gradiente semiquantitativa eletroforese em gel (DGGE), quantitativo em tempo real e de transcrição reversa (TR) reação em cadeia da polimerase (PCR), bibliotecas de clones, entre outros, para determinar os membros numericamente e funcionalmente dominantes e as sequências de genes dominantes. Tais métodos podem ser usados para fazer estudos fundamentais definitivos *in situ*, ou seja, estudos de culturas

convencionais, perfis fisiológicos e a compreensão de modelos de populações catabólicas, analisando ao mesmo tempo espécies somente cultiváveis, como também, a classificação de comunidades completas com base em marcadores biológicos (RALEBITSO-SENIOR et al., 2012),

No entanto, análises mais profundas e específicas são ainda essenciais para desvelar a cadeia funcional de espécies e comunidades para maior compreensão do processo e auxiliar na definição das diferentes configurações de reatores e estabelecimento das condições experimentais, em sistemas de biofiltração de biogás (CABROL; MALHAUTIER, 2011).

3 MATERIAL E MÉTODOS

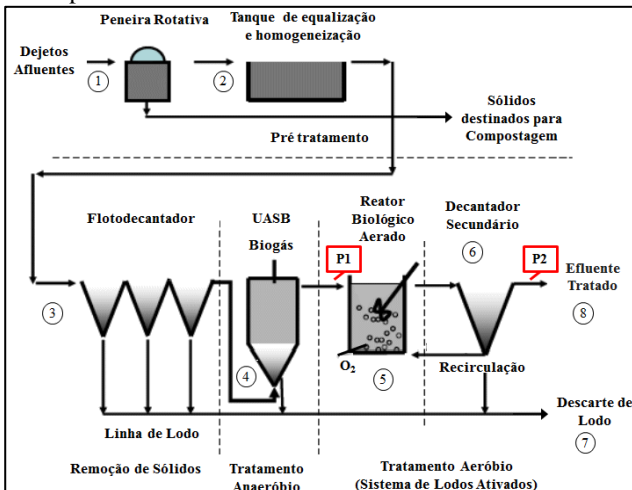
O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Análises Físico-Químicas, setor de Experimentação e Análise Ambientais da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Suínos e Aves, localizada em Concórdia/SC e no Laboratório de Tratamento Biológico de Resíduos – LTBR, localizado em Florianópolis/SC, na Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC.

3.1 ESTAÇÃO DE TRATAMENTOS DE DEJETOS SUÍNOS DA EMBRAPA SUINOS E AVES (ETDS)

O efluente utilizado para o meio de cultura e solução de nutrientes do sistema de biofiltração, foi obtido a partir da Estação de Tratamento de Dejetos Suínos (ETDS) da Embrapa Suínos e Aves, localizada no município de Concórdia/SC.

A Figura 5 representa o fluxograma do processo de tratamento de efluentes.

Figura 5- Fluxograma do processo de tratamento de efluentes na ETDS da Embrapa Suínos e Aves.



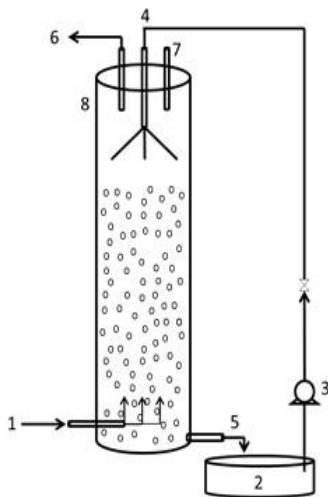
Fonte: Kunz et al., (2009).

Na estação de tratamento, o dejetos proveniente da atividade suinícola é recebido e armazenado em um tanque com volume de aproximadamente 6 m³. A seguir, o efluente passa por uma peneira de escovas rotativas (1), que realiza a separação de sólidos grosseiros (> 2 mm); posteriormente, o dejetos segue por gravidade até o tanque de equalização (2), onde ocorre a homogeneização do material residual. Após a passagem pelo tanque de equalização, o dejetos é bombeado para o flotodecantador onde ocorre um tratamento físico-químico, realizado pela adição de agentes coagulantes/floculantes (tanino e poliacrilamida). O sobrenadante desta etapa é conduzido por gravidade até o reator biológico anaeróbico com manta de lodo de fluxo ascendente – *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB) (4), onde os sólidos orgânicos suspensos são hidrolizados e biodegradados através de uma transformação anaeróbia, resultando na produção de biogás e no crescimento da biomassa bacteriana. Os gases gerados no processo são armazenados e queimados na Câmara de Biogás. O efluente do reator UASB alimenta o Reator Biológico Aeróbico (RBLA) (5) cuja capacidade é de 80 m³ e seu funcionamento é baseado no processo de lodos ativados, tendo por finalidade degradar biologicamente a matéria orgânica remanescente sob condições aeróbias e promover a oxidação do nitrogênio amoniacal.

3.2 APARATO EXPERIMENTAL (BIOFILTRO BIOTRICKLING)

Um biofiltro vertical do tipo *biotrickling*, em escala piloto denominado (BTF), foi construído com tubo de PVC (1,5 m de altura e diâmetro interno Ø 0,2 m), tampado em ambas as extremidades (Figura 6). O BTF foi preenchido com esferas de polipropileno denominadas *bioballs* (ISTA I-294, Taiwan) como material suporte para os microrganismos na fixação do biofilme (volume vazio do BTF 43 L e porosidade η de 0,7). O BTF foi continuamente operado a longo de 200 dias contínuos e alimentado por aspersão, a partir de sua extremidade superior, com água residuária de suinocultura como solução de meio de cultura. Este efluente foi obtido diretamente a partir de um reator biológico de lodo ativado (RBLA- Figura 7B), pós nitrificação-desnitrificação, localizado na sequência de um reator anaeróbico de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), situados na Estação de tratamento de dejetos de suínos (ETDS) da Embrapa Suínos e Aves (Concórdia, SC, Brasil).

Figura 6- Esquema do biorreator BTF. (1) entrada de biogás; (2) do reservatório de águas residuais; (3) bomba peristáltica; (4) de entrada de águas residuais; (5) saída de águas residuais; (6) saída biogás purificado; (7) termômetro; (8) biorreator.



As características físico-químicas do digestato bruto utilizado, obtido a partir de um reator biológico de lodos ativados como solução de alimentação de nutrientes no biofiltro, estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização do efluente utilizado

Parâmetros	RBLA
pH	6,9 ± 0,5
P-PO ₄ ³⁻ (mg L ⁻¹)	25 ± 5,2
N-NH ₃ (mg L ⁻¹)	57,4 ± 15
N-NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹)	85 ± 12
N-NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	700 ± 24
COT* (mg L ⁻¹)	75 ± 5
Turbidez (NTU)	730 ± 8
ST** (g L ⁻¹)	3,2 ± 0,2

* Carbono orgânico total

** Sólidos totais

3.3 MEIO DE NUTRIENTES E ALIMENTAÇÃO

O efluente (Tabela 1), foi mantido num reservatório circular de 50 L (30 cm de altura, 71 cm Ø d.i.) bombeado a uma vazão (Q) de $1,17 \text{ L min}^{-1}$, utilizando uma bomba peristáltica (Provitec, AWG-5000). A solução de efluente foi substituída a cada 6 a 7 dias para restabelecer os níveis de nutrientes e aceptores de elétrons, assim como para controlar o pH ($>3,5$).

O BTF foi continuamente alimentado com biogás bruto num modo de fluxo ascendente e em contracorrente à aspersão superior de nutrientes. Linhas de gás específicas foram usadas para conectar o biogás produzido no UASB (24 m^3) (Figura 7A), diretamente na válvula de entrada do BTF. O fluxo de biogás foi controlado por medidores de fluxo (OMEGA, FLDA Fluxo-Meter, BR) e um totalizador (Drum-tipo medidor de gás TG0 5 / 1- Ritter, Alemanha). Eficiência de dessulfurização do BTF foi estimada pela diferença entre as concentrações de saída e entrada de H_2S do fluxo de gás, que foram de $0,024$, $0,036$, e $0,048 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$. Um esquema do BTF utilizado foi apresentado na Figura 5.

Figura 7- Reator anaeróbio UASB (A) e Reator biológico de lodos ativados RBLA (B). Fontes de biogás e meio de nutrientes, respectivamente.



3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS

3.4.1 Análises dos gases

Amostras de gases foram tomadas ao longo do tempo a partir do BTF na entrada e na saída para a quantificação de metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) e sulfeto de hidrogênio (H₂S). As concentrações foram determinadas usando um analisador de biogás (GEOTECH biogás-5000, Geotechnical Instruments Ltd., UK), contendo célula interna emitente comprimento de onda de infravermelho com duplo canal de referência para análise dos gases CH₄ e CO₂, e célula eletroquímica interna para análises dos gases O₂, CO e H₂S. Os resultados são expressos em volume (% v/v e ppmv) a partir da pressão estática e da pressão diferencial dos gases no aparelho.

3.4.2 Determinação de Nitrogênio Amoniacal Total

A análise de nitrogênio amoniacal total foi realizada com eletrodo de íon seletivo da marca Thermo segundo procedimento descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

3.4.3 Determinação de Nitrito, Nitrato, Acetato, Sulfato e Fosfato

As concentrações foram determinadas por cromatografia de íons (ICS-5000 Thermo Scientific™ Dionex™ HPIC System). Utilizou-se um detector condutivimétrico com supressão eletrolítica coluna capilar IonPac AS18-Fast (0,4 x 150 mm) e pré-coluna IonPac AG18-Fast (0,4 x 35 mm), marca Dionex, volume de injeção de 0,4 µLe vazão de eluente de 0,012 ml.min⁻¹.

3.4.4 Determinação de enxofre elementar

As concentrações de enxofre elementar foram quantificadas por Analisador Elementar Orgânico (CHNS-O Flash, 2000). A amostra é pesada em cápsulas de estanho, colocado dentro do amostrador

automático Thermo Scientific MAS 200R. Em seguida, passa ao reator de oxidação / redução mantido a uma temperatura de 900-1000 ° C. Substâncias são convertidas em gases elementares que, após redução adicional, são separados por uma coluna cromatográfica e finalmente detectado por um detector de condutividade térmica (TCD).

3.4.5 Determinação de carbono total

Para a determinação de carbono orgânico total dissolvido e inorgânico total dissolvido, as amostras foram previamente filtradas em filtro de fibra de vidro de porosidade de 0,45µm. A quantificação foi através do princípio da oxidação por combustão a 950°C sendo o CO₂ medido por detector NDIR em infravermelho no equipamento de análise elemental Multi Elemental Analytic® Multi C/N 2100 marca Analytik Jena.

3.4.6 Determinação da Temperatura, Oxigênio Dissolvido e pH

As determinações de pH foram realizadas com pHmetro portátil da marca Hanna Instruments HI 98183 pH/ORP Meter e calibrado segundo os procedimentos descritos pelo APHA (2012), com soluções tampão de pH 7,0 e 4,0 da marca Merk. A temperatura e o Oxigênio dissolvido foram medidos duas vezes ao dia com o equipamento portátil HANNA 9146 Oxigênio Dissolvido Meter com sistema de membranas.

3.4.7 Determinação de turbidez e sólidos totais, voláteis e fixos

Para a determinação de turbidez foi utilizado um turbidímetro Hach Model 2100P Portable Turbimeter com medidas de turbidez de 0,01 a 1000 NTU, e procedimento baseado no APHA (2012). As determinações de sólidos totais (ST, SV e SF), foram realizadas por gravimetria conforme APHA (2012).

3.4.8 Extração de RNA

Após 115 dias de aclimação do BTF, o biofiltro foi aberto para permitir o acesso ao material suporte (*bioballs*) contendo microorganismos em forma de biofilme. As *bioballs* (material suporte) coletadas, foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido para análises posteriores. Um total de 18 g de massa fresca de biofilme foi obtido a partir de 9 *bioballs* coletadas aleatoriamente. Para extração de RNA, *bioballs* foram mecanicamente quebradas, imersas em solução tampão de RNA (Zymo Research Corp., Irvine, CA), agitadas e centrifugadas em tubo cônico de centrifuga livre de 50 mL, estéril de DNAase / RNAase (Corning Incorporated, Nova Iorque).

O procedimento foi repetido 3 vezes. RNA foi extraído utilizando ZR Soil/Fecal RNA MicroPrep™, de acordo com o protocolo (Zymo Research Corp., Irvine, CA) e, em seguida, armazenado a -80 ° C no banco de microrganismos da EMBRAPA Suínos e Aves, para posteriores análises. A quantidade e integridade do RNA foram verificados usando o fluorímetro Qubit (Qubit® dsDNA e RNA BR Assay Kit) (Tabela 2). Transcriptase reversa de amostras extraídas de mRNA, foi realizada utilizando o kit de transcrição reversa High-Capacity cDNA (Applied Biosystems®) e o material complementar DNA (cDNA) armazenado a -20 ° C.

Tabela 2 - Medições de RNA para a determinação da sua integridade e quantidade. Os dados apresentados são para quatro amostras selecionadas aleatoriamente.

Amostra	A260/A230	A260/A280	RNA ($\eta\text{g L}^{-1}$)
1	1.709	2.046	881
2	2.155	2.057	1185
3	1.356	2.043	591
4	2.078	1.938	1974

3.4.9 TR-PCR quantitativo em tempo real

Caracterização das comunidades metanogênicas dominantes desenvolvidas no biofilme do BTF foi determinada através de análises 16S rRNA. Transcriptase reversa quantitativa em tempo real TR-PCR, foi utilizada para quantificar a concentração da maioria dos membros relevantes dentro de três ordens de bactérias metanogênicas *Methanobacteriales* (MBT), *Methanomicrobiales* (MMB) e *Methanosarcinales* (MSL), utilizando quatro iniciadores representativos (Tabela 3), como previamente descrito (YU et al., 2005).

Reações SYBR foram realizadas utilizando o kit de PCR QuantiFast® SYBR® Green (Qiagen). A configuração da reação da sonda Taqman foi realizada com o Kit GoTaq® Sonda de PCR System (Promega). A amplificação foi realizada em intervalo de dois passos de ciclos térmicos para ambas SYBR (5 min a 95°C seguido de 40 ciclos de 10 s a 95°C e 30 s a 60°C) e Taqman (2 min a 95°C seguido de 40 ciclos de 15 s a 95°C e 1 min a 55°C) reações. Todos os ensaios TaqMan e SYBR qPCR em tempo real foram realizados utilizando QuantStudioTM6 Flex Real-Time PCR System (Applied Biosystems®). As amostras foram analisadas em triplicatas.

Tabela 3 - Iniciadores de qPCR 16S rRNA Transcriptase reversa quantitativa em tempo real TR-PCR, sequências iniciadoras e tamanho dos fragmentos.

Iniciadores	Ordem taxonômica	Sequência iniciadora	Amplicon tamanho (bp)
<i>MBT857</i>	<i>Methanobacteriales</i>	F-5'CGWAGGGAAGCTGTTAAGT3'	343
<i>MBT1196</i>		R-5'TACCGTCGTCCTCCACTCCTT3'	
<i>MSL812</i>	<i>Methanosarcinales</i>	F-5'GTAAACGATRYTCGCTAGGT3'	354
<i>MSL1159</i>		R-5'GGTCCCCCACAGWGTACC3'	
<i>MMB749</i>	<i>Methanomicrobiales</i>	Probe-5'TYCGACAGTGA GGRACGAAAGCTG3'	506
<i>MMB282</i>		F-5'ATCGRTACGGGTTGTGGG3'	
<i>MMB832</i>		R-5'CACCTAACGCRCATHGTTTAC3'	

3.4.10 Curvas padrão de DNA recombinante

As curvas padrão foram preparadas por diluições em série de DNA de plasmídeo recombinante (*recDNA*) contendo sequências-alvo clonadas, como anteriormente descrito (MEZZARI et al., 2013). Resumidamente, o DNA coletado a partir das *bioballs* foi agitado em vórtice e centrifugado em tubos cônicos de 50 mL estéreis (Corning Incorporated, Nova Iorque). Amplificação de PCR quantitativo em tempo real (qPCR) dos fragmentos do gene alvo pertencentes a MBT, MMB e MSL foram realizados como se explicou anteriormente.

Produtos resultantes do qPCR foram purificados com o kit de purificação PCR PureLink® (Invitrogen®) e clonado pGEMT Easy Vector Systems (Promega®) de acordo com as instruções do fabricante. As amostras clonadas foram inseridas em células competentes JM109 (Promega, EUA), plaqueadas em meio seletivo de Luria Bertani (LB) e selecionadas com X-Gal (Sigma, St. Louis, MO) e ampicilina em placas de meio (100 mg mL⁻¹). Colônias positivas aleatoriamente selecionadas foram submetidas a análise sequencial com um sistema ABI 3730 de sequenciação, utilizando kit versão 3.1 ABI PRISM BigDye Terminator (Applied Biosystems, Foster City, CA). Os produtos sequenciados foram purificados com método de precipitação isopropanol / etanol antes da análise (ABI Prism 3130 Avant sequenciador Applied Biosystems). As sequências obtidas foram alinhadas usando Ribosomal Database Project (RDP) Infernal Aligner. As sequências foram comparadas entre si, utilizando Basic Local Alignment Search Tool – BLAST® (blast.ncbi.nlm.nih.gov).

As concentrações de DNA plasmidial (ng µL⁻¹) de cada clone contendo as sequências alvo MBT, MMB, e MSL, foram determinadas espectrofotometricamente 700 nm (NanoDrop Technologies, Wilmington, EUA) e convertidas para números de cópias de de *recDNA* µL, utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Gene copies } \mu\text{L}^{-1} = \frac{\text{recDNA concentration (ng } \mu\text{L}^{-1}) \times 6.022 \times 10^{23} \text{ (copies mol}^{-1})}{\text{DNA amplicon size (bp)} \times 660 \text{ (g mol}^{-1}) \times 10^9 \text{ (ng g}^{-1})}$$

Onde:

660 g mol⁻¹ = massa média de 1 bp cadeia dupla de DNA

6.022 × 10²³ cópias mol⁻¹ = Número de Avogadro

3.5 CAPACIDADE DE REMOÇÃO DE H₂S PELO BTF

A capacidade do BTF em remover H₂S foi estimada tanto pela eficiência de remoção (ER), quanto pela capacidade de eliminação (CE) (CHUNG; HUANG; TSENG, 1996). Eficiência de remoção foi definida como a fração de H₂S removida pelo BTF como segue:

$$\text{Eficiência de remoção (ER) \%} = \left(\frac{C_{\text{entrada}} - C_{\text{saída}}}{C_{\text{entrada}}} \right) \times 100$$

Onde:

C_{entrada} e $C_{\text{saída}}$ são as concentrações de entrada e saída de H₂S em (g m⁻³), respectivamente.

Devido às concentrações do contaminante, o fluxo de biogás, e o dimensionamento do biofiltro, somente o cálculo da ER pode não ser apropriado para descrever o desempenho do biofiltro, apenas refletindo uma condição específica na qual é medida. Por essa razão, nomeadamente, CE, que é definida como a quantidade de contaminante removida por unidade de tempo normalizado para o volume do leito do biofiltro preenchido, é um parâmetro mais adequado para prever o desempenho do processo de biofiltração. A determinação da CE permite a comparação direta dos resultados dos dois sistemas do biofiltro diferentes, porque o volume e fluxo são normalizados. Além disso, CE é também uma função da concentração de entrada. CE foi determinada como segue:

$$\text{Capacidade de Eliminação: } CE = \frac{Q}{V} (C_{\text{entrada}} - C_{\text{saída}})$$

Onde:

Q é a vazão de biogás (m³ h⁻¹) e V é o volume do reator vazio (m³).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE (ÁGUA RESIDUÁRIA)

Estudos têm demonstrado que, independentemente de o material de filtragem utilizado, a adição constante de nutrientes é necessária para sustentar uma atividade de degradação microbiana satisfatória. Uma deficiência de nutrientes progressiva, torna-se um fator limitante para o desempenho de biofiltração a longo prazo (DELHOMÉNE et al., 2002).

Soluções de nutrientes mais comumente usadas em BTFs são, na maioria, estritamente sintéticas. Diante do analisado, colaboradores já relataram, que a presença dos elementos C, N e P, em termos nutricionais para o processo, não demandam de uma concentração mínima, ou seja, não há limitação do processo a baixos coeficientes. Porém, a suplementação deve ser contínua para manter a eficiência do processo e não causar morte de microrganismos, como foram testadas por (WU et al., 2010)

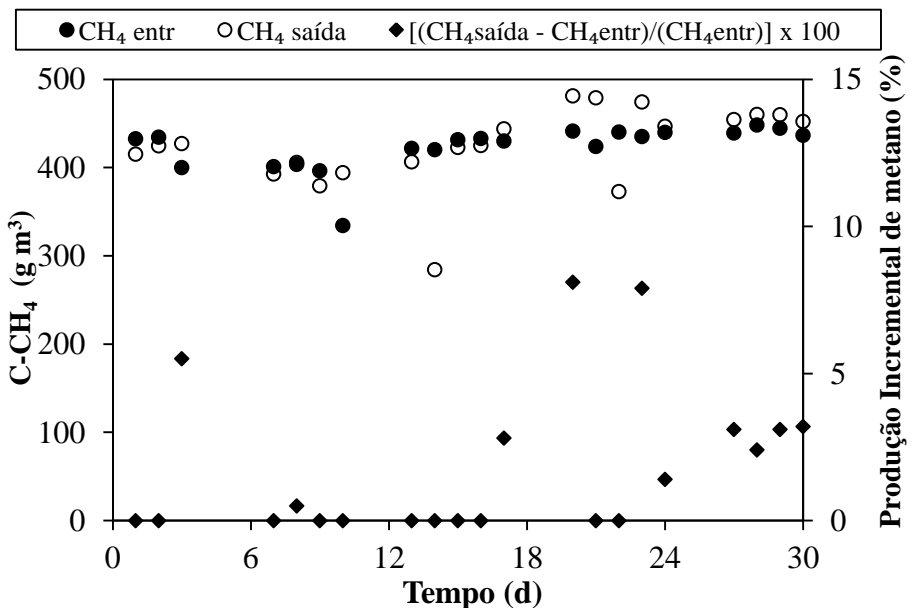
De acordo com (TIEDJE, 1988), concentrações acima de 42 mg N-NO₂⁻ podem ser inibitórias para algumas espécies de bactérias oxidantes de H₂S. Verifica-se na Tabela 1 que o valor de concentração deste íon no efluente foi bem superior a este reportado (85 mg N-NO₂⁻), porém, como será visto nos capítulos subsequentes, não houve inibição do processo na realização deste trabalho.

Fontes de carbono e de energia a partir da degradação de contaminantes e nutrientes, tais como nitrogênio, fósforo, e oligoelementos são necessários para o crescimento microbiano. Normalmente, N, P e K são adicionados sob a forma de fertilizantes comerciais (DEVINY, 1999). Neste caso, a concentração de fosfato de 25 mg. L⁻¹ presente no próprio meio de alimentação, mostrou-se suficiente para o aporte e crescimento de microrganismos. Quanto a concentração de carbono orgânico não houve consumo notório, devido o processo ser quimiolitotrófico, com fonte de energia sendo o próprio sulfeto de hidrogênio (H₂S) e fonte de carbono dióxido de carbono (CO₂).

4.2 ACLIMATAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

O reator foi alimentado desde o início da operação com água residuária proveniente do reator biológico de lodos ativados (RBLA). A colonização e aclimatação por bactérias do BTF proposto não requereu a inoculação devido à existência de diferentes grupos de microrganismos presentes naturalmente no efluente, sendo este recirculado para a adaptação dos mesmos ao reator. A aclimatação foi alcançada após 12 dias de operação do sistema, observado pelo aumento da produção de metano no gás, indicando haver remoção de H_2S satisfatória (como discutido abaixo) e representado na Figura 8.

Figura 8- Perfil do início da atividade de produção de metano após 12 dias de aclimatação do BTF.



A inoculação de biofiltros é uma tarefa trabalhosa, em se tratando de tempo para adaptação, o crescimento e a atividade específica dos microrganismos. Em alguns casos, mesmo com o uso de microrganismos oxidantes de H_2S específicos, tais como *Thiobacillus*, e

meio de cultura adequado para o mesmo, há dificuldade em estabelecer o processo, o que requer vários dias de aclimação (KIM; RENE; PARK, 2008).

A utilização de uma fonte próxima ao sistema de tratamento de águas residuais, devidamente acoplada ao mesmo, como fonte de nutrientes e aceptores de elétrons, foi preferida, numa tentativa para superar a complexidade e manutenção do sistema. Portanto, o trabalho e manuseio intensos, que são comumente associados na preparação de soluções de alimentação (nutrientes) específicas, ou adição de uma fonte externa de aceptores de elétrons, foram evitadas com esta forma de alimentação do biofiltro. Além disso, efluentes de sistemas de desnitrificação biológica foram inicialmente utilizados como fonte adequada e natural de conhecida população de bactérias oxidadoras de H_2S , sendo capazes de colonizar com sucesso o BTF. Resultados semelhantes são encontrados na literatura, relatando aclimação completa do sistema em 15 dias, utilizando-se de meio sintético e com inserção de bactérias oxidantes de H_2S (DUAN et al., 2006), corroborando com a rápida adaptação do meio e colonização do sistema, apresentando de forma rápida e eficiência do processo.

A utilização de microrganismos exógenos como fonte de inóculo, portanto, não foi necessária, eliminando os riscos associados com o processo de inoculação. Por exemplo, a inoculação de um biofiltro com microrganismos exógenos específicos oxidantes de H_2S , tais como *Thiobacillus* spp., pode ser de difícil estabelecimento da comunidade biológica em escala de campo, exigindo até 3 semanas para aclimação adequada (KIM; RENE; PARK, 2008).

4.3 BIODISSULFURIZAÇÃO DO FLUXO DE BIOGÁS

4.3.1 Efeito da concentração de H_2S

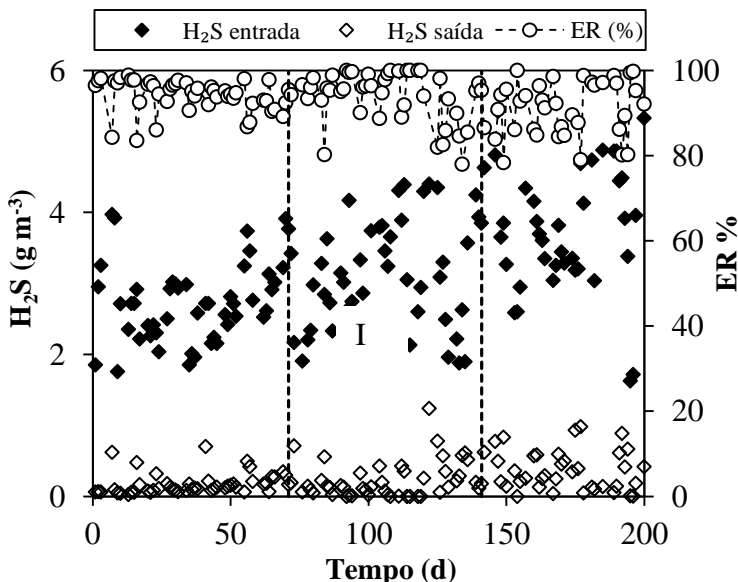
Um biofiltro do tipo *biotrickling filter* (BTF) foi construído em escala piloto e monitorado durante 200 dias de operação, para avaliar a sua capacidade em remover sulfeto de hidrogênio (H_2S) do fluxo de biogás, derivado de água residuária da suinocultura. A seguir são apresentadas na Tabela 4, as condições operacionais do sistema.

Tabela 4- Características e condições operacionais do BTF utilizadas na planta piloto.

Parâmetros	
Material suporte	Biobolas de polipropileno
Vazões de biogás ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$)	0,024 a 0,048
Concentrações de entrada H_2S (g m^{-3})	1,63 – 5,43
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	21 ± 4
pH solução de nutrientes	6.9
Recirculação líquida (L min^{-1})	1.17
TRH (min)	54 a 107,5

Durante todo o período de tempo experimental, a concentração de H_2S de entrada encontrados no biogás variou de $1,63 \text{ g.m}^{-3}$ a $5,43 \text{ g.m}^{-3}$. Estas variações foram devidas às flutuações inerentes na composição do biogás, reações esperadas e ocorridas em biodigestores em escala piloto. Eficiência de remoção (ER) de H_2S de 100% (Figura 9) foi obtida com concentrações de entrada H_2S de $4,31 \text{ g m}^{-3}$. A ER obtida com este reator BTF é comparativamente superior a outros sistemas de biofiltro semelhantes (Tabela 5).

Figura 9- Concentrações de H_2S medidos na entrada (entrada) e saída (saída) do BTF juntamente com a eficiência de remoção estimada (ER). Vazões de biogás de entrada (Q) de 0,024 (I), 0,036 (II) e 0,048 $m^3 \cdot h^{-1}$ (III), foram testados.



Para ilustrar, a máxima eficiência de remoção do BTF de 99,8%, foi obtida com máxima capacidade de eliminação de $4,80 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. O número obtido neste estudo, é comparado a trabalhos similares (Tabela 5). Para efeitos de comparação, um sistema de biofiltro escala piloto, muito mais elaborado combinado com injeção de oxigênio 7% (v/v) e com bactérias específicas de inoculação, foi capaz de manter uma ER máxima de 100% com uma CE de $26,9 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (SU; CHEN; CHANG, 2014). O processo testado no presente trabalho, foi estabelecido com sucesso, sem necessidade de suplementação nutricional, o que é vantajoso quando comparado aos processos com efluentes sintéticos. Neste caso, o sistema mostrou-se eficaz apresentando vantagens econômicas no processo de biodessulfurização.

Da mesma forma, levando-se em conta um BTF em escala piloto sob condições experimentais comparáveis, Fortuny et al. (2008), alcançaram máxima CE de $170 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Outros estudos, utilizando processo físico-químico, através do uso de Fe (III) -EDTA, removeu pequenas concentrações de H_2S a partir do ar (60 a 130 mg de m^{-3})

(WASAG, 2012). O emprego de sulfeto férrico para remoção de sulfeto de hidrogênio é satisfatório, mas, acarreta riscos eminentes de explosão no processo, devido a reação ser extremamente exotérmica (LIU et al., 2013).

A fim de avaliar dois processos biológicos simultaneamente (biofiltro e biofiltro tipo *biotrickling*) para a degradação de uma mistura de compostos de enxofre (Tabela 5), utilizando biogás sintéticos e meio de cultura de águas residuais, os autores encontraram uma satisfatória remoção de H_2S , provando ainda mais que a utilização de biofiltros para biodessulfuração é eficaz (MALHAUTIER et al., 2014). No entanto, resultados satisfatórios foram encontrados neste estudo, operando com um único reator com apenas um tipo de material suporte.

Os coeficientes da capacidade de eliminação (CE) dependem dos dois termos da equação: ($H_2S_{\text{entrada}} - H_2S_{\text{saída}}$) e tempo de residência (TRH). No entanto, as características do biofiltro, condições operacionais e tipos de microrganismos também definem a ER. Os resultados mostram uma diferença nas espécies de bactérias, o que provavelmente afetou a taxa de conversão H_2S . Como pode ser observado, o desempenho operacional do BTF em escala piloto descrito neste trabalho é consistente com a literatura, como demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5- Capacidade de eliminação e eficiência de remoção sulfeto de hidrogênio por diferentes tipos biofiltro e condições experimentais.

Tipo de reator/ escala	Material Suporte/recheio	Solução de nutrientes	Biogás	CE^a (ER)^b	Referências
Biotrickling/laboratório	Espuma de poliuretano	Sintética	Sintético	20,6 (90)	(ABDEHAGH et al., 2011)
Biotrickling/laboratório	-	Sintética	Sintético	79,1 (69,1)	(VIKROMVARASIRI; PISUTPAISAL, 2014)
Biotrickling/laboratório	Anéis de metálicos	Sintética	Sintético	223 (95)	(MONTEBELLO et al., 2014)
Biofiltro aeróbio/laboratório	Fibra de coco	Sintética	Natural	256.4 (94,7)	(CHAIPRAPAT et al., 2011)
Biotrickling /piloto	Bamboo / carvão	Sintética	Natural	5,0 (96)	(SU; CHEN; CHANG, 2014)
Biotrickling/piloto	Polipropileno	Efluente doméstico	Natural	243 (90)	(DE ARES PACOCHAGA et al., 2014)
Biotrickling /laboratório	Fibra de coco; cascas de pinheiro	Sintética	Sintético	3,0 (100)	(CABROL; MALHAUTIER, 2011)
Químico-biológico/laboratorio	GAC ^c	Sintética	Sintético	66 (95)	(HO et al., 2013a)
Químico-biológico/piloto	GAC ^c	Sintética	Natural	79,4 (96)	(HO et al., 2013b)
Biotrickling/piloto	Bioballs de polipropileno	Água residual da suinocultura	Natural	4,80 (99,8)	Este estudo

^a CE: Capacidade de eliminação (g H₂S m⁻³ h⁻¹)

^b ER: Eficiência de Remoção (%)

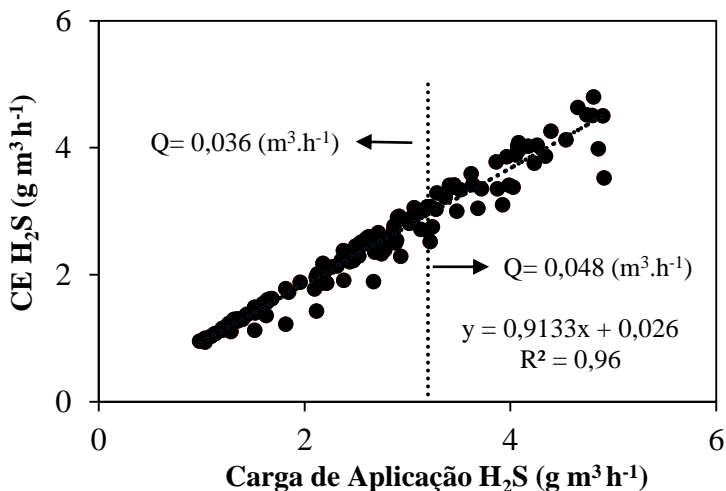
^c GAC: Carvão ativado granular

Outras experiências (Tabela 5) em escala de laboratório, usando meio de cultura sintético e condições controladas de pH ácido, mostraram uma ER máxima de 95% com um CE de $100 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (MONTEBELLO et al., 2014). Estudos realizados em um sistema de dessulfurização em escala piloto, alimentado com biogás real e efluentes de águas residuais de tanque aeróbio secundário como solução de alimentação de nutrientes, mostrou uma ER de 90% com um CE média de $169 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (DE ARESPACOCCHAGA et al., 2014).

Para determinar as limitações do sistema do BTF, no que diz respeito ao aumento das vazões de aplicação de H_2S , a vazão de biogás de entrada foi aumentada gradualmente a partir de $0,024 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ a $0,048 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Após 71 dias, a vazão de biogás foi aumentada de $0,024$ a $0,036 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Concomitantemente com o aumento da vazão de biogás, houve redução na ER em média de 94% para 92% (Figura 9).

Novamente, um aumento adicional na vazão biogás de entrada de $0,036$ para $0,048 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ após 141 dias, também foi acompanhada por redução nos coeficientes de ER de 92% para 89% (Figura 10). Estes resultados sugerem limitação do sistema para remover H_2S de forma eficiente a qualquer vazão de aplicação de entrada de biogás. A CE média obtida com vazão de entrada de biogás foi de $0,024$, $0,036$ e $0,048 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ foi de 2,26; 3,26 e 1,35 $\text{g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectivamente.

Figura 10 - Correlação entre taxa de aplicação de entrada H_2S e capacidade de eficiência de remoção H_2S (CE), pelo biofiltro ao longo de 200 dias de operação.



Os aumentos das vazões de biogás ao longo do período experimental afetaram ER e CE. No entanto, mesmo nestas circunstâncias, uma ER média de 92% com um CE de $2,57 \text{ g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ foi alcançada através de todo o período experimental, resultando em concentrações de saída de $0,23 \text{ g m}^{-3}$ de H_2S (equivalentes a 160 ppmv) no biogás filtrado. Do ponto de vista de engenharia, a obtenção de tais concentrações de H_2S relativamente baixas na corrente de gás filtrado serviu para demonstrar a adequação e a aplicabilidade potencial deste tipo de biofiltro na produção de uma fonte de combustível limpo de biometano combustível. Isto porque, os motores de combustão interna são capazes de suportar até 500 ppmv de H_2S sem apresentar problemas de corrosão (WELLINGER, 2000).

Tabela 6 sumariza os coeficientes aplicados de vazões de biogás, juntamente com CE e RE alcançadas no processo.

Tabela 6- Diferentes vazões de biogás, capacidade de eliminação e eficiência de remoção.

Vazões de biogás ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$)	0,024	0,036	0,048
CE ($\text{g H}_2\text{S m}^{-3} \text{h}^{-1}$)	2,26 \pm 0,28	3,26 \pm 0,45	1,35 \pm 0,7
ER (%)	94,8	92,8	89

A água residuária, a partir do reservatório de alimentação, foi amostrada após 115 dias de operação do BTF, sendo analisados os parâmetros: oxigênio dissolvido, pH, amônia, íon acetato (CH_3COO^-), sulfato (S-SO_4^{2-}), nitrito (N-NO_2^-), nitrato (N-NO_3^-), conforme apresentado na Figura 11. Um pH de $\cong 6,9$ foi medido no reservatório de alimentação e meio de nutrientes (efluente bruto), quando repostado (Figura 12). O pH no reservatório diminuiu lentamente ao longo do tempo atingindo um valor de pH=3 na parte final de 6 dias. Do mesmo modo, as concentrações de oxigênio dissolvido ao longo do tempo diminuíram de 2,4 para 0,4 mg L^{-1} , para o mesmo período de tempo experimental (Figura 12). A amônia não foi consumida ao longo do tempo mantendo-se em concentrações de 50 a 63 mg L^{-1} (Figura 17).

Figura 11- Perfil de concentrações de sulfato, nitrato, nitrito e acetato na solução de nutrientes ao longo do tempo. Dados adquiridos após 115 dias de operação biofiltro.

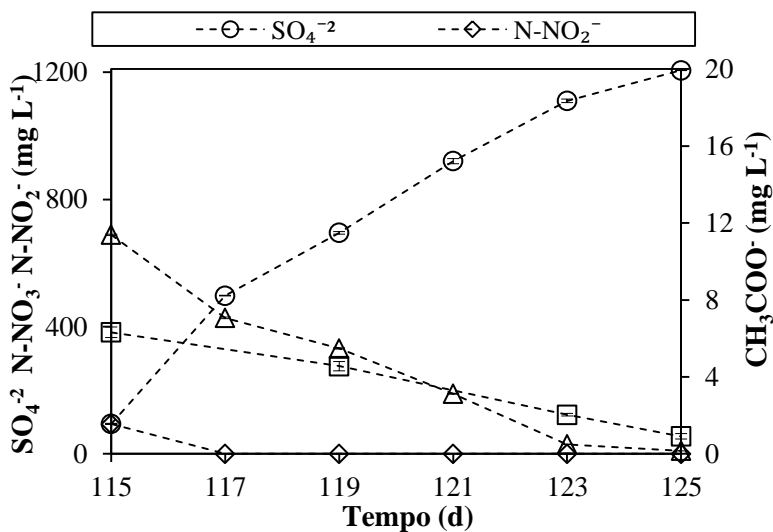
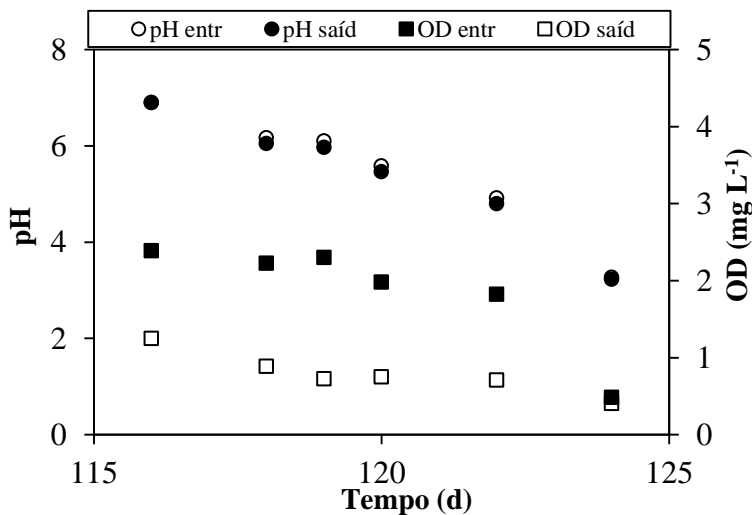


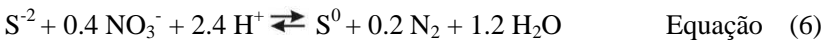
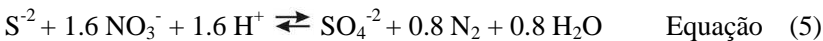
Figura 12- Variações de pH e concentração de oxigênio dissolvido na entrada e saída do biofiltro ao longo do tempo de amostragem



Os dados e respostas analíticos indicaram, que o biofiltro remove eficazmente H_2S do biogás por meio de um processo de oxidação biológica, corroborando os resultados encontrados por Su et al. (2014), utilizando condições semelhantes, com a produção de sulfato de $1149 \pm 172 \text{ mg L}^{-1}$.

A concentração de sulfato $S-SO_4^{-2}$ na solução de alimentação aumentou de 94 a 1206 mg L^{-1} após 6 dias. Para $N-NO_2^-$ ($93,6 \text{ mg L}^{-1}$) e $N-NO_3^-$ (689 mg L^{-1}), concentrações estas inicialmente presentes na solução de nutrientes, foram continuamente consumidos ao longo do tempo, atingindo 0 e $9,6 \text{ mg L}^{-1}$ após 6 dias, respectivamente (Figura 11). O acetato também foi consumido lentamente de ($6,3 \pm 0,48 \text{ mg L}^{-1}$), ao longo de 6 dias de monitoramento.

Assim, com base no consumo de $N-NO_2^-$ e $N-NO_3^-$, e o acúmulo de SO_4^{-2} (1.206 mg L^{-1}) e S^0 (55.8%) ao longo do tempo, é possível confirmar que a remoção biológica de H_2S no sistema BTF, foi realizada por desnitrificação quimiolitotrófica, corroborando como anteriormente encontrado por (KLEEREBEZEM; MENDEZ, 2002). Neste caso, $N-NO_2^-$ e $N-NO_3^-$ são reduzidos para N_2 , enquanto o H_2S é oxidado a SO_4^{-2} ou S^0 , de acordo com as Eqs. (FAJARDO et al., 2012).

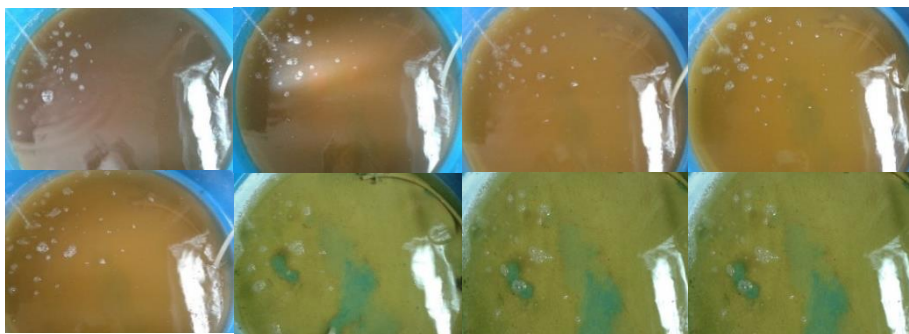


Desnitrificação quimiolitotrófica pode ser usada para remover os óxidos de nitrogênio e compostos de enxofre como uma alternativa interessante para desnitrificação heterotrófica de efluentes com altas concentrações de nitrato e de baixo teor de matéria orgânica (VAIOPOULOU; MELIDIS; AIVASIDIS, 2005).

Vale ressaltar sobre as concentrações de NO_x , as quais apresentaram, boa resposta ao crescimento microbiano, não havendo inibição, mesmo com a presença elevada de nitrato (Tabela 1). No entanto, este fenômeno não parece ter um efeito inibidor sobre o desempenho do processo, como foi mencionado anteriormente na literatura (SONG; SHIN; HWANG, 2010). Além disso, o biofiltro foi capaz de funcionar usando as formas nitrogenadas (nitrito e nitrato), como um receptor de elétrons. Desta forma, as concentrações de nutrientes do efluente utilizado foram suficientes e apresentando eficiência satisfatória.

É digno de nota mencionar que, após 6 dias, um lodo amarelado (Figura 13) foi observado um depósito na parte inferior do reservatório de alimentação. Além disso, a caracterização deste lodo revelou que sua composição foi de $55,8\% \pm 1,3$ enxofre na forma de S^0 , indicando que SO_4^{-2} e S^0 foram os principais metabólitos produzidos a partir da biooxidação de H_2S (Figura 13).

Figura 13- Representação visual do meio de nutrientes do BTF ao longo de 6 dias



Fonte: O autor

As reações de oxidação de sulfeto por sulfobactérias quimiolitotróficas, representadas pelas equações acima, foram confirmadas, considerando a viabilidade termodinâmica mais favorável do processo (Tabela 7), comparativamente com a rota metabólica apresentada, como demonstrado pelas reações.

Tabela 7- Reações de oxidação de sulfeto por sulfobactérias quimiolitotróficas.

Reação de Oxidação	ΔG° (KJ/mol)
$H_2S + O_2 \rightleftharpoons SO_4^{-2} + 2H^+$	-798,2
$S^{-2} + 0,4NO_3^- + 2,4H^+ \rightleftharpoons S^0 + 0,2N_2 + 1,2H_2O$	-191,0
$S_2O_3^{-2} + 2O_2 + H_2O \rightleftharpoons 2SO_4^{-2} + 2H^+$	-884,1
$S^0 + H_2O + 1\frac{1}{2}O_2 \rightleftharpoons SO_4^{-2} + 2H^+$	-587

Fonte: O autor

Além disso, quando o efluente de águas residuárias é usado como fase líquida e o BTF é operado em condições neutras de pH, outras culturas bacterianas (por exemplo, com capacidade de nitrificação, oxidação da matéria orgânica, a oxidação do metano),

também podem crescer sobre o biofilme por causa da matéria orgânica residual e do conteúdo de nutrientes, competindo deste modo com as bactérias oxidadoras de sulfato (BOS`s), pelo consumo de oxigênio.

Esta condição favoreceu duas situações que melhoraram o desempenho e funcionamento do sistema de biofiltragem. Primeiramente, não aconteceu diluição do biogás de saída do BTF e também, favoreceu o desenvolvimento das bactérias metanogênicas em um ambiente sob condições anóxicas, produzindo biometano, aumentando a capacidade energética do BTF.

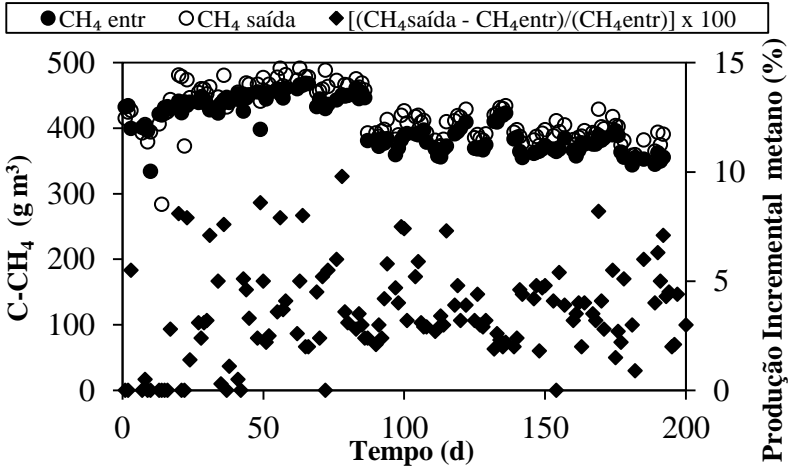
4.4 INCREMENTO NA PRODUÇÃO DE METANO

Não se encontram na literatura estudos que se concentraram na capacidade de filtros biológicos em aumentar a concentração de CH_4 simultaneamente com a biodessulfurização nos fluxos de biogás. Ao contrário, no entanto, muitos estudos visam a remoção biológica CH_4 do fluxo de biogás, contribuindo assim para a redução das emissões de gases de efeito estufa (RAGHOEBARSING et al., 2006). Portanto, considerando-se em nível mundial, o crescente interesse por fontes alternativas de energias renováveis a partir de biomassa e o valor energético intrínseco do CH_4 como combustível, a produção incremental de biometano, concomitantemente ao processo de

biodessulfurização do biogás derivado de água residuária de suinocultura, e talvez qualquer outra composição de gás que também seja rica em CO_2 e H_2 , podem ser relevantes para a indústria. As concentrações de entrada de CH_4 e de CO_2 presente no biogás bruto foram de $80,7 \pm 7,4\%$ e $24,1 \pm 2,7\%$, respectivamente (Figura 14). As concentrações de CH_4 e de CO_2 medidas na saída do BTF foram de $82,3 \pm 7,5\%$ e $22,1 \pm 3,6\%$, respectivamente. Dessa maneira, foi observada uma produção incremental de

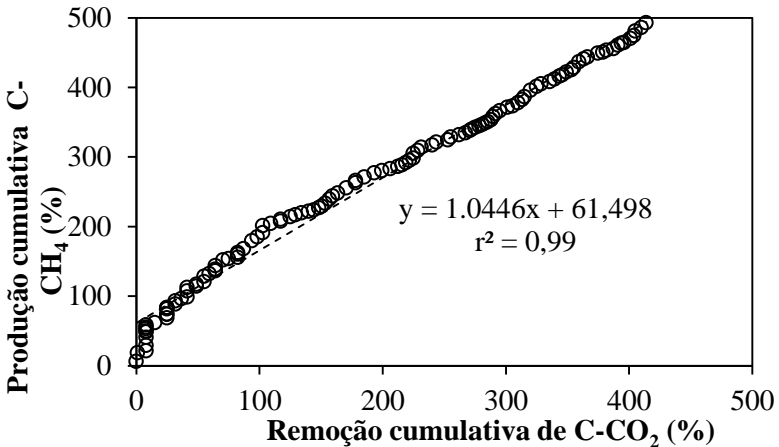
biometano de até 10%. No entanto, o aumento em CH_4 médio de $3,8 \pm 1,68 \text{ g.m}^{-3}$ ao longo dos 200 dias de operação BTF, foi contínuo (Figura 14).

Figura 14 - Perfil das concentrações de metano medidas na entrada e na saída do biofiltro ao longo de 200 dias de operação contínua do BTF.



Este pequeno, mas consistente, aumento na concentração de CH_4 durante a remoção simultânea de H_2S pode ser importante no desenvolvimento de volumes de reatores maiores e a utilização de tempos hidráulicos prolongados, ou seja, com o

Figura 15- Correlação entre a produção cumulativa de $C-CH_4$ e remoção de $C-CO_2$ ao longo de 200 dias de operação contínua do BTF.



objetivo de explorar ao máximo essa concentração extra de metano e transformar em benefício energético.

Observou-se uma correlação satisfatória ($r^2 = 0,99$) entre a remoção de C-CO₂ e produção C-CH₄ (Figura 15), fornecendo uma forte evidência para corroborar que a produção de CH₄ incremental foi ligada a atividade metanogênica hidrogenotrófica convertendo CO₂ a CH₄.

O uso de efluente de águas residuárias a partir de biorreatores de desnitrificação como solução de alimentação para biofiltros *biotrickling*, podem conter concentrações suficientemente altas de NO₂⁻ e NO₃⁻, que são conhecidos por exercer efeitos tóxicos ou inibitórios sobre bactérias metanogênicas. No entanto, enquanto que vários estudos apontam para que os efeitos dos NO_x⁻ são altamente tóxicos para metanogênese, outros estudos mostraram resultados contraditórios que demonstram que a desnitrificação e metanogênese, podem coexistir em biofilmes (PENG et al., 2008).

Esta controvérsia, claramente demonstra que uma maior investigação é necessária para prever os efeitos potenciais de NO_x presentes nas águas residuárias, na estrutura da comunidade metanogênica que se desenvolve na forma de biofilme em biofiltros de dessulfurização. A presença de NO_x nas concentrações testadas neste trabalho (783 mg L⁻¹, Figura 11) não parecem afetar a atividade metanogênica, corroborando com estudo previamente reportado (BANIHANI; SIERRA-ALVAREZ; FIELD, 2009). Bactérias metanogênicas também são altamente sensíveis e inibidas por baixas concentrações de oxigênio. No entanto, a presença de oxigênio dissolvido a $\cong 2,2$ mg.L⁻¹ (Figura 12), não parecem afetar a ocorrência da metanogênese.

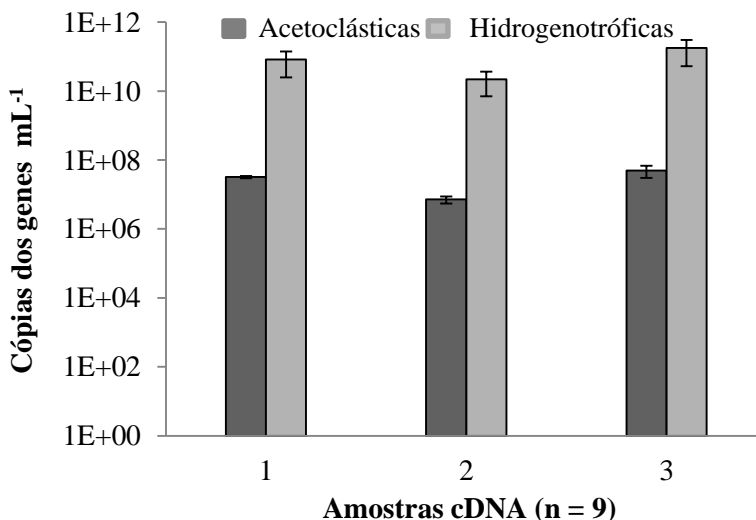
4.4.1 Efeito na concentração de CO₂

O consumo de CO₂ não foi observado durante os primeiros 15 dias de operação do BTF, sugerindo que populações metanogênicas hidrogenotróficas, demandam tempo para aclimação ao meio e para o estabelecimento apropriado no biofilme (Figuras 14 e 15). Durante este tempo de aclimação, no entanto, a produção de CH₄ foi ainda verificada, provavelmente devido à atividade das bactérias metanogênicas acetoclásticas, utilizando o acetato presente na alimentação.

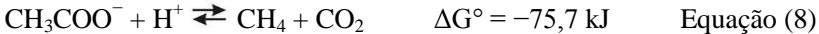
A detecção de bactérias metanogênicas acetoclásticas ativas no biofilme pode explicar o consumo lento de acetato do substrato ao longo do tempo (Figura 11). É importante salientar, que durante o tempo de aclimação do BTF, metanogênicas acetoclásticas podem ter desempenhado um papel importante, induzindo a formação e manutenção de biofilme, ligados ao material suporte de preenchimento (*bioballs*), como foi de fato observado. Isso ocorre, porque bactérias acetoclásticas têm velocidades de crescimento relativamente maiores do que bactérias hidrogenotróficas e agem como um núcleo de crescimento para a iniciação de, formando uma espinha dorsal estrutural que permite a fixação de outros microrganismos (SONG; SHIN; HWANG, 2010) (ZHENG; ANGENENT; RASKIN, 2006).

Depois que o tempo de aclimação tenha sido alcançado, a rota metabólica metanogênica via hidrogenotrofia, pareceu prevalecer sobre todo o período experimental. Isto foi evidenciado pela forte correlação obtida entre a produção de CH_4 e consumo de CO_2 , bem como o domínio das bactérias metanogênicas hidrogenotróficas (Figuras 15 e 16).

Figura 16 - Número médio de cópias dos genes de metanogênicas acetoclásticas (*Methanosarcinales*) e hidrogenotróficas (*Methanobacteriales* e *Methanomicrobiales*), desenvolvidas no biofilme do BTF após 140 dias de aclimação do sistema.



O aumento da população de bactérias hidrogenotróficas desenvolvidas e encontradas no biofilme não foi surpreendente, considerando a viabilidade termodinâmica mais favorável do processo, comparativamente com a rota metabólica acetoclástica, como demonstrado pelas reações:



Em relação ao comportamento da fração de carbono orgânico do meio de nutrientes durante o processo, observou-se um aumento linear na concentração de carbono inorgânico (Figura 18A), devido a dissolução do CO_2 gasoso na fase líquida, até sua saturação. Em contraste, a concentração de carbono orgânico no meio de nutrientes manteve-se constante (Figura 18B), não havendo consumo pelos microrganismos como fonte de energia, corroborando com o processo quimiolitotrófico.

4.4.2 Estrutura da comunidade metanogênica

Os grupos dominantes de metanogênicas encontradas no biofilme do BTF, foram quantificados por transcriptase reversa filogenética 16S rRNA de genes codificantes de e sua correspondente taxonomia metanogênica (YU et al., 2005). A utilização destes conjuntos de iniciadores foram utilizados com sucesso para identificar organismos de referência correspondentes, em cultura pura ou amostras ambientais (SHIN et al., 2010) (SONG; SHIN; HWANG, 2010) (LEE et al., 2009) (HWANG et al., 2008).

Alguns dos principais gêneros observados, a partir desses estudos utilizando o MMB-set, incluem detecção de membros de *Methanoculleus* spp., *Methanospirillum* spp., *Methanomicrobium* spp., *Methanogenium* spp., *Methanoplanus* spp., *Methanofollis* spp., *Methanocorpusculum* spp., *Methanococcus* spp. Já os iniciadores MBT identificaram membros *Methanobacterium* spp., *Methanothermobacter* spp., *Methanobrevibacter* spp., *Methanosphaera* spp.

Iniciadores MSL, os quais compreendem tanto as famílias Methanosarcina Methanosaeta, também pode abranger *Methanosarcina* spp., *Methanococoides* spp., *Methanolobus* spp., *Methanosalsum* spp. e *Methanosaeta* spp. Entre as três principais ordens de archaea investigadas, apenas *Methanosarcinales* (MSL) são compostas de

grupos de bactérias metanogênicas acetoclásticas (ROSENBERG et al., 2013), enquanto que *Methanobacteriales* (MBT) e *Methanomicrobiales* (MMB) são conhecidas como metanogênicas hidrogenotróficas (WORM et al., 2011).

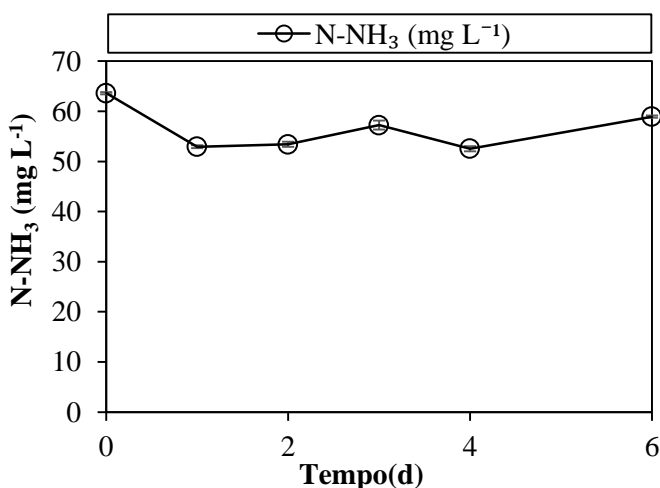
As populações hidrogenotróficas do grupo MBT foram dominantes no biofilme do BTF, seguido por MMB e MSL (Tabela 8). A concentração média de cópias dos genes MBT ($1,9 \times 10^{11}$ cópias de gene mL^{-1}) foi de três e quatro ordens de grandeza superiores do que o grupo MMB ($7,3 \times 10^8$ cópias do gene mL^{-1}) e acetoclásticas MSL ($2,9 \times 10^7$ cópias de gene mL^{-1}), respectivamente. A presença de metanogênicas acetoclásticas e hidrogenotróficas no BTF, está de acordo com a natureza ubíqua das comunidades *archaeas* acetoclásticas e hidrogenotróficas, encontradas nos efluentes de águas residuárias da suinocultura, usado como solução de alimentação do BTF (DA SILVA et al., 2014). As amostras representam dados de 9 *bioballs* recolhidas aleatoriamente. Cada conjunto de amostras representam análises de RNA de 3 *bioballs*. Os dados são apresentados como médias número de cópias de gene (mL^{-1} e \pm desvio padrão).

Tabela 8 - TR-PCR número de cópias de genes por mL com iniciadores destinados a detectar as ordens *Methanobacteriales* (MBT), *Methanomicrobiales* (MMB) e *Methanosarcinales* (MSL).

Amostras	MBT	MMB	MSL
1	$1.64 \times 10^{11} \pm 1.52 \times 10^{10}$	$8.86 \times 10^8 \pm 1.29 \times 10^7$	$3.20 \times 10^7 \pm 3.36 \times 10^6$
2	$4.24 \times 10^{10} \pm 3.35 \times 10^{10}$	$1.05 \times 10^9 \pm 3.97 \times 10^8$	$7.15 \times 10^6 \pm 2.35 \times 10^6$
3	$3.60 \times 10^{11} \pm 3.29 \times 10^{11}$	$2.52 \times 10^8 \pm 1.21 \times 10^8$	$4.90 \times 10^7 \pm 2.63 \times 10^7$
Médias	$1.89 \times 10^{11} \pm 1.60 \times 10^{11}$	$7.30 \times 10^8 \pm 2.44 \times 10^8$	$2.94 \times 10^7 \pm 2.11 \times 10^7$

Deve notar-se que, embora com taxas de crescimento mais rápidas, metanogênicas acetoclásticas são mais sensíveis às concentrações de amônia tóxica comparadas às hidrogenotróficas (SONG; SHIN; HWANG, 2010). É improvável, contudo, que as concentrações consideravelmente baixas de amônia medidos na solução de alimentação 50 a 63 mg L⁻¹ (Figura 17) poderiam exercer esses efeitos adversos sobre a atividade das metanogênicas acetoclásticas.

Figura 17- Perfil da concentração de amônia na solução de alimentação de águas residuárias ao longo do tempo. Dados adquiridos após 115 dias de operação biofiltro.



No entanto, enquanto as concentrações de amônia, nitrato, nitrito e oxigênio presentes no efluente (pH= 6,9 a 3,5), conforme discutido anteriormente podem afetar a atividade metanogênica em atingir o seu potencial metabólico completo no BTF, ainda permanece pouco claro e demanda maiores investigações.

5 CONCLUSÃO

No geral, um biofiltro simples e de baixa manutenção para a remoção de H_2S de vazões diferenciadas de biogás foi projetado e avaliado. Efluente de águas residuárias da suinocultura a partir de um bioprocessamento (terciário) de desnitrificação foi usado eficazmente como fonte de nutrientes, aceptores de elétrons e inóculo de bactérias oxidantes de H_2S , de modo que, a aclimação dos microrganismos e do processo foi obtida a partir dos 12 dias iniciais de operação.

Máxima remoção de eficiência de 99,8% foi atingida na máxima capacidade de eliminação de 4,80 g de H_2S $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$. Em oposição, o valor crítico de CE foi de 0,94 g de H_2S $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$. Médias da CE obtidas com as vazões de entrada do fluxo de biogás de 0,024, 0,036 e 0,048 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$ foi de 2,26; 3,26 e 1,35 g de H_2S $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$, respectivamente. A remoção do sulfeto de hidrogênio e a produção de biometano a partir de biogás de águas residuárias de suinocultura podem ser acoplados, porém, demandam de maiores investigações.

Bactérias metanogênicas hidrogenotróficas incluídas no grupo *Methanobacteriales*, foram dominantes no biofilme do BTF, mesmo sob condições microaerofílicas e desnitrificantes, as quais não são termodinamicamente favoráveis para o processo de metanogênese, mas necessárias para a oxidação biológica de H_2S satisfatória. Um aumento em CH_4 de $\cong 3,8 \pm 1,68 \text{ g m}^3$ foi observado no fluxo de biogás filtrado ao longo dos 200 dias de operação do BTF.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar em paralelo um reator fermentativo para aproveitar o H_2 e redirecioná-lo para otimizar hidrogenotrofia.
- Compreender ecologia microbiana interna afim de entender os processos bioquímicos e rotas metabólicas de biooxidação de sulfeto;
- Avaliar o efeito de outras fontes de efluentes como meio de cultura e aceptores de elétrons;
- Diferenciar condições operacionais tais como temperatura, TRH, oxigênio dissolvido e pH, para avaliar seus efeitos na eficiência e chegar a melhor condição de operação;
- Testar outros materiais suporte para fixação do biofilme.

6 REFERÊNCIAS

ABATZOGLOU, N.; BOIVIN, S. A review of biogas purification processes. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 3, n. 1, p. 42–71, jan. 2009.

ABDEHAGH, N. et al. Performance of a Biotrickling Filter Employing Thiobacillus Thioparus Immobilized on Polyurethane. v. 8, n. 3, p. 245–254, 2011.

ANCENO, A. J. et al. Evolution of N-converting bacteria during the start-up of anaerobic digestion coupled biological nitrogen removal pilot-scale bioreactors treating high-strength animal waste slurry. **Bioresource technology**, v. 100, n. 14, p. 3678–87, jul. 2009.

APHA – American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22 ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2012.

ARELLANO-GARCÍA, L. et al. Dimethyl sulphide degradation using immobilized Thiobacillus thioparus in a biotrickling filter. **Environmental technology**, v. 30, n. 12, p. 1273–9, nov. 2009.

BANIHANI, Q.; SIERRA-ALVAREZ, R.; FIELD, J. A. Nitrate and nitrite inhibition of methanogenesis during denitrification in granular biofilms and digested domestic sludges. **Biodegradation**, v. 20, n. 6, p. 801–12, 1 nov. 2009.

BARBOSA, V. L. et al. Characterization of Thiobacillus thioparus isolated from an activated sludge bioreactor used for hydrogen sulfide treatment. **Journal of applied microbiology**, v. 101, n. 6, p. 1269–81, dez. 2006.

BURGESS, J. E.; PARSONS, S. A.; STUETZ, R. M. Developments in odour control and waste gas treatment biotechnology: a review. **Biotechnology Advances**, v. 19, n. 1, p. 35–63, fev. 2001.

CABROL, L.; MALHAUTIER, L. Integrating microbial ecology in bioprocess understanding: The case of gas biofiltration. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 90, n. 3, p. 837–849, 2011.

CHAIPRAPAT, S. et al. Removal of hydrogen sulfide by complete aerobic oxidation in acidic biofiltration. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 1, p. 344–352, jan. 2011.

CHEN, K. et al. Feasibility of Direct Utilization of Biomass Gasification Product Gas Fuels in Tubular Solid Oxide Fuel Cells for

On-Site Electricity Generation. **Energy & Fuels**, v. 30, n. 3, p. 1849–1857, 17 mar. 2016.

CHUNG, Y.-C. et al. Structure of the bacterial community in a biofilter during dimethyl sulfide (DMS) removal processes. **Bioresource technology**, v. 101, n. 18, p. 7176–9, set. 2010.

CHUNG, Y.-C.; HUANG, C.; TSENG, C.-P. Operation optimization of *Thiobacillus thioautotrophicus* CH11 biofilter for hydrogen sulfide removal. **Journal of Biotechnology**, v. 52, n. 1, p. 31–38, 1 nov. 1996.

CROUZET, M. et al. Exploring early steps in biofilm formation: set-up of an experimental system for molecular studies. **BMC microbiology**, v. 14, p. 253, jan. 2014.

DA SILVA AND ALVAREZ, P. J. J. Bioaugmentation. In: **Bioaugmentation for Groundwater Remediation**. Houston: [s.n.]. p. 4532–4541.2010

DA SILVA, M. L. B. et al. Assessment of Bacterial and Archaeal Community Structure in Swine Wastewater Treatment Processes. **Microbial Ecology**, p. 77–87, 2014.

DE ARESPACOCCHAGA, N. et al. Biogas biological desulphurisation under extremely acidic conditions for energetic valorisation in Solid Oxide Fuel Cells. **Chemical Engineering Journal**, v. 255, p. 677–685, nov. 2014.

DELHOMÉNIE, M.-C. et al. Biofiltration of air contaminated with toluene on a compost-based bed. **Advances in Environmental Research**, v. 6, n. 3, p. 239–254, set. 2002.

DENG, L. et al. Process of simultaneous hydrogen sulfide removal from biogas and nitrogen removal from swine wastewater. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5600–5608, 2009.

DÍAZ, I.; RAMOS, I.; FDZ-POLANCO, M. Economic analysis of microaerobic removal of H₂S from biogas in full-scale sludge digesters. **Bioresource technology**, v. 192, p. 280–286, 19 maio 2015.

DUAN, H. et al. Biological treatment of H₂S using pellet activated carbon as a carrier of microorganisms in a biofilter. **Water research**, v. 40, n. 14, p. 2629–36, ago. 2006.

DUAN, H. et al. Combined effect of adsorption and biodegradation of biological activated carbon on H₂S biotrickling filtration. **Chemosphere**, v. 66, n. 9, p. 1684–1691, jan. 2007.

FAJARDO, C. et al. Autotrophic denitrification with sulphide in a sequencing batch reactor. **Journal of Environmental Management**, v. 113, p. 552–556, 2012.

FORTUNY, M. et al. Biological sweetening of energy gases mimics in biotrickling filters. **Chemosphere**, v. 71, n. 1, p. 10–7, mar. 2008.

GIJS KUENEN, J. Colourless sulfur bacteria and their role in the sulfur cycle. **Plant and Soil**, v. 43, n. 1-3, p. 49–76, 31 ago. 1975.

HO, S.-H. et al. Characterization and optimization of carbohydrate production from an indigenous microalga *Chlorella vulgaris* FSP-E. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 157–165, 2013a.

HO, S.-H. et al. Bioethanol production using carbohydrate-rich microalgae biomass as feedstock. **Bioresource technology**, v. 135, p. 191–8, 2013b.

HWANG, K. et al. Methanogenic profiles by denaturing gradient gel electrophoresis using order-specific primers in anaerobic sludge digestion. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 80, n. 2, p. 269–276, 2008.

KAO, C.-Y. et al. Ability of a mutant strain of the microalga *Chlorella* sp. to capture carbon dioxide for biogas upgrading. **Applied Energy**, v. 93, p. 176–183, maio 2012.

KENNES, C.; RENE, E. R.; VEIGA, M. C. Bioprocesses for air pollution control. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 84, n. 10, p. 1419–1436, 2 jun. 2009.

KIM, J. H.; RENE, E. R.; PARK, H. S. Biological oxidation of hydrogen sulfide under steady and transient state conditions in an immobilized cell biofilter. **Bioresource technology**, v. 99, n. 3, p. 583–8, fev. 2008.

KLEEREBEZEM, R.; MENDEZ, R. Autotrophic denitrification for combined hydrogen sulfide removal from biogas and post-denitrification. **Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research**, v. 45, n. 10, p. 349–56, jan. 2002.

LEE, O. K. et al. Chemo-enzymatic saccharification and bioethanol fermentation of lipid-extracted residual biomass of the microalga, *Dunaliella tertiolecta*. **Bioresource Technology**, v. 132, p. 197–201, 2013.

LEE, C. et al. Quantitative analysis of methanogenic community dynamics in three anaerobic batch digesters treating different wastewaters. **Water Research**, 2009.

LIU, B. et al. Pyrophoric tendency of hydrogen sulfide corrosion product in oil tanks under aerobic condition. **Research on Chemical Intermediates**, v. 41, n. 1, p. 11–17, 28 mar. 2013.

LIWEI, Y. et al. **Technology progresses of swine wastewater treatment from large-scale pig farms** 2011 International Symposium on Water Resource and Environmental Protection. **Anais...IEEE**, maio 2011 Disponível em: <<http://ieeexplore.ieee.org/articleDetails.jsp?arnumber=5893167>>. Acesso em: 30 set. 2015

LOMANS, B. P.; POL, A.; OP DEN CAMP, H. J. M. Microbial cycling of volatile organic sulfur compounds in anoxic environments. **Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research**, v. 45, n. 10, p. 55–60, jan. 2002.

MALHAUTIER, L. et al. Potentialities of coupling biological processes (biotrickler/biofilter) for the degradation of a mixture of sulphur compounds. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 1, p. 89–96, 2014.

MEZZARI, M. P. et al. Assessment of N₂O emission from a photobioreactor treating ammonia-rich swine wastewater digestate. **Bioresource technology**, v. 149, p. 327–32, dez. 2013.

MOESTEDT, J.; NILSSON PÅLEDAL, S.; SCHNÜRER, A. The effect of substrate and operational parameters on the abundance of sulphate-reducing bacteria in industrial anaerobic biogas digesters. **Bioresource technology**, v. 132, p. 327–32, mar. 2013.

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

OMRI, I. et al. H₂S gas biological removal efficiency and bacterial community diversity in biofilter treating wastewater odor. **Bioresource technology**, v. 102, n. 22, p. 10202–9, nov. 2011.

PANDEY, R. A.; MALHOTRA, S. Desulfurization of Gaseous Fuels with Recovery of Elemental Sulfur: An Overview. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 29, n. 3, p. 229–268, 3 jul. 1999.

PENG, Y. et al. Organic removal by denitritation and methanogenesis and nitrogen removal by nitritation from landfill leachate. **Water research**, v. 42, n. 4-5, p. 883–92, fev. 2008.

PIROLI, M. et al. Methane production from a field-scale biofilter designed for desulfurization of biogas stream. **Journal of Environmental Management**, v. 177, p. 161–168, 2016.

RABBANI, K. A. et al. Recovery of sulphur from contaminated air in wastewater treatment plants by biofiltration: a critical review.

Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2015.

RAGHOEBARSING, A. A. et al. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. **Nature**, v. 440, n. 7086, p. 918–21, 13 abr. 2006.

RALEBITSO-SENIOR, T. K. et al. Waste gas biofiltration: Advances and limitations of current approaches in microbiology. **Environmental Science and Technology**, v. 46, n. 16, p. 8542–8573, 2012.

RAMÍREZ, M. et al. Removal of hydrogen sulfide by immobilized *Thiobacillus thioparus* in a biotrickling filter packed with polyurethane foam. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 21, p. 4989–4995, 2009.

RATTANAPAN, C.; OUNSANEHA, W. Removal of Hydrogen Sulfide Gas using Biofiltration - a Review. **Walailak Journal**, v. 9, n. 1, p. 9–18, 2012.

REHMAN, Z. U.; FAROOQI, I. H.; AYUB, S. Performance of Biofilter for the Removal of Hydrogen Sulphide Odour. **International Journal of Environmental Research**, v. 3, n. 4, p. 537–544, 17 ago. 2010.

ROSENBERG, E. et al. (EDS.). **The Prokaryotes**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013.

SCHIEDER, D. et al. Microbiological removal of hydrogen sulfide from biogas by means of a separate biofilter system: experience with technical operation. **Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research**, v. 48, n. 4, p. 209–12, jan. 2003.

SHIN, S. G. et al. Qualitative and quantitative assessment of microbial community in batch anaerobic digestion of secondary sludge. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 24, p. 9461–9470, 2010.

SINGH, L. et al. Application of immobilized upflow anaerobic sludge blanket reactor using *Clostridium* LS2 for enhanced biohydrogen production and treatment efficiency of palm oil mill effluent. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 5, p. 2221–2229, fev. 2013.

SONG, M.; SHIN, S. G.; HWANG, S. **Methanogenic population dynamics assessed by real-time quantitative PCR in sludge granule in upflow anaerobic sludge blanket treating swine wastewater** *Bioresource Technology*. **Anais...**2010

SU, J.-J.; CHEN, Y.-J.; CHANG, Y.-C. A study of a pilot-scale biogas bio-filter system for utilization on pig farms. **Journal of**

Agricultural Science, v. 152, n. 2, p. 217–224, 2014.

SYED, M. et al. Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological processes - a review. **Canadian Biosystems Engineering**, v. 48, p. 2.1–2.14, 2006.

TANG, K.; BASKARAN, V.; NEMATI, M. Bacteria of the sulphur cycle: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. **Biochemical Engineering Journal**, v. 44, n. 1, p. 73–94, abr. 2009.

TIEDJE, J. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. **Biology of anaerobic microorganisms**, 1988.

VAIOPOULOU, E.; MELIDIS, P.; AIVASIDIS, A. Sulfide removal in wastewater from petrochemical industries by autotrophic denitrification. **Water research**, v. 39, n. 17, p. 4101–9, out. 2005.

VAN GROENESTIJN, J.; HESSELINK, P. M. Biotechniques for air pollution control. **Biodegradation**, v. 4, n. 4, p. 283–301, 1993.

VIKROMVARASIRI, N.; PISUTPAISAL, N. Potential Application of Halothiobacillus Neapolitanus for Hydrogen Sulfide Removal in Biogas. **Energy Procedia**, v. 61, p. 1219–1223, 2014.

WASAG, H. Removal of hydrogen sulphide from air by oxidation on fibrous ion exchange resins. **Przemysl Chemiczny**, v. 91, n. 5, p. 1064–1067, 2012.

WEILAND, P. Biogas production: current state and perspectives. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 85, n. 4, p. 849–60, jan. 2010.

WORM, P. et al. Growth- and substrate-dependent transcription of formate dehydrogenase and hydrogenase coding genes in Syntrophobacter fumaroxidans and Methanospirillum hungatei. **Microbiology (Reading, England)**, v. 157, n. Pt 1, p. 280–9, jan. 2011.

WU, G. et al. Peat-Based Toluene Biofiltration: A New Approach to the Control of Nutrients and pH. **Environmental Technology**, 11 maio 2010.

YU, Y. et al. Group-specific primer and probe sets to detect methanogenic communities using quantitative real-time polymerase chain reaction. **Biotechnology and Bioengineering**, 2005.

ZHENG, D.; ANGENENT, L. T.; RASKIN, L. Monitoring granule formation in anaerobic upflow bioreactors using oligonucleotide hybridization probes. **Biotechnology and bioengineering**, v. 94, n. 3, p. 458–72, 2006.

ANEXO

Figura 18- Perfil da concentração de carbono orgânico e inorgânico total.

