

Maria Joana Allievi

**AVALIAÇÃO DE UM BIOFILTRO PARA TRATAMENTO DE
ODORES DE ESTAÇÃO ELEVATÓRIA DE ESGOTO
SANITÁRIO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr^o. Paulo Belli
Filho
Coorientadora: Dr^a. Daniele
Damasceno Silveira

Florianópolis
2018

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

Allievi, Maria Joana

Avaliação de um biofiltro para tratamento de
odores de estação elevatória de esgoto sanitário /
Maria Joana Allievi ; orientador, Paulo Belli
Filho, coorientador, Daniele Damasceno Silveira,
2018.

109 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós
Graduação em Engenharia Ambiental, Florianópolis,
2018.

Inclui referências.

1. Engenharia Ambiental. 2. Tratamento de
odores. 3. Biofiltração. 4. Gás sulfídrico. 5.
Comunidade bacteriana. I. Belli Filho, Paulo . II.
Silveira, Daniele Damasceno. III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação
em Engenharia Ambiental. IV. Título.



**“AVALIAÇÃO DE UM BIOFILTRO PARA TRATAMENTO DE ODORES DE
ESTAÇÃO ELEVATÓRIA DE ESGOTO SANITÁRIO”**

MARIA JOANA ALLIEVI

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de

MESTRA EM ENGENHARIA AMBIENTAL

na Área de Engenharia Ambiental.

Aprovado por:

Prof. Dr. Paulo Belli Filho
(Orientador)

Dr.ª Daniele Dâmasco Silveira
(Coorientadora)

Prof. Dr. Leonardo Hoinaski

Prof.ª Dr.ª Rejané Helena Ribeiro da Costa

Prof.ª Dr.ª Sandrine Bayle

Prof.ª Dr.ª Maria Eliza Nagel Hassemer
(Coordenadora)

Dedico esse trabalho aos meus pais,
Maria e Hermes e ao meu irmão
Arthur (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Santa Catarina, ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental e ao Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU) por disponibilizar suas instalações para o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço às instituições financeiras, CAPES e FINEP, que viabilizaram todo esse período de estudo.

Agradeço à Multiágua Engenharia Ambiental e à Companhia Catarinense de Águas e Saneamento por serem parceiras no desenvolvimento, execução e operação desse projeto desde o seu início em 2013.

Meus agradecimentos ao meu orientador Paulo Belli Filho, que depositou em mim sua confiança para conclusão desse projeto.

Agradeço à minha coorientadora Daniele Damasceno, por aprofundar os estudos sobre biologia molecular.

Agradeço o LABEFLU, minha família dentro da Universidade, à professora Rejane, ao professor Paulo Belli Filho, ao professor Rodrigo e a todos os membros desse laboratório incrível que fizeram esses dois anos passar num piscar de olhos.

Agradeço aos meus colegas da turma 10.2 por estarem presentes em toda essa jornada. E não poderia faltar o agradecimento às minhas amigas de infância, juntas desde 1991.

Agradeço aos meus pais, Maria Lucia e Hermes, por sempre apoiarem minhas decisões e por conceder o suporte necessário para o estudo.

Agradeço ao meu irmão Arthur (*in memoriam*) que esteve presente em quase toda essa jornada, por sempre acreditar em mim, por me dar forças quando mais necessitei e por me encorajar a dar passos que nunca imaginei. Esse trabalho é dedicado a ele, feito com amor para ele.

“Devemos amar mais a vida do que o sentido da vida” Dostoiévski.

RESUMO

Os gases oriundos das estações elevatórias de esgotamento sanitário se dispersam próximos a zonas urbanizadas e acabam ocasionando problemas de cunho pessoal, social e econômico. Esses gases são compostos por uma mistura de compostos odorantes, onde uma das substâncias principais é o gás sulfídrico (H_2S), o qual é caracterizado pelo odor de ovo podre, além de ser altamente tóxico e corrosivo. O sulfeto de hidrogênio é formado quando ocorre a degradação da matéria orgânica em anaerobiose, como nas tubulações de coleta e transporte de esgoto sanitário. Para o tratamento desse gás podem ser aplicadas tecnologias físicas, químicas ou biológicas. As duas primeiras, devido à necessidade de aditivos químicos e a geração de subprodutos tóxicos, possuem elevado custo de tratamento, desta forma as tecnologias biológicas ganharam espaço no tratamento de odores. As vantagens do tratamento biológico vão desde o ótimo custo \times benefício, a geração de subprodutos menos tóxicos ou inertes ao meio ambiente, facilidade de operação e manutenção, baixos requisitos energéticos, até mesmo por poder tratar uma grande variedade de compostos. A biofiltração é uma alternativa biológica e, por mais atrativa que seja, já que pode tratar eficientemente o H_2S , ainda tem alguns pontos a serem estudados e aperfeiçoados, como o conhecimento dos micro-organismos que realizam a transformação desse poluente, suas rotas metabólicas e a mudança na comunidade bacteriana de acordo com as variações nas condições ambientais. A partir do exposto, esse trabalho teve o propósito de avaliar as comunidades bacterianas presentes em um sistema de biofiltração que proporcionam tratamento eficiente ao gás sulfídrico. Os objetivos específicos visaram avaliar a eficiência de remoção do gás sulfídrico (H_2S), certificar a melhora na qualidade do ar da região afetada através de técnicas olfatométricas, avaliar a influência das condições ambientais na microbiota presente na camada filtrante e determinar os micro-organismos que possivelmente realizam o tratamento do gás sulfídrico através de análises moleculares, especificamente PCR (*Polymerase chain reaction*) e DGGE (*Denaturing gradient gel electrophoresis*). O biofiltro foi operado por 1224 dias, desde julho de 2013 até dezembro de 2016. A eficiência de remoção do sulfeto de hidrogênio foi estável na maior parte do período de operação, atingindo valores da ordem de 100%. Com a redução das

concentrações do sulfeto de hidrogênio dispersa no ar, houve melhora significativa na qualidade do ar da região atestada pelos funcionários da companhia de saneamento. A comunidade bacteriana presente no sistema de biofiltração apresentou dissimilaridade referente as condições ambientais, principalmente na estações do ano - inverno e verão. Foram determinados nesse sistema os gêneros bacterianos *Methylocystis sp.*, *Steroidobacter sp.* e *Bacillus sp.*

Palavras Chaves: Tratamento de odores; Biofiltração; Gás sulfídrico; Comunidade bacteriana.

ABSTRACT

Near urban area, dispersed gases by wastewater pumping station cause personal, social and economic problems. A mixture of odorant compounds, where one of the main substances is hydrogen sulfide (H_2S). Rotten egg odor is the main characteristic by hydrogen sulfide, as well as being highly toxic and corrosive. Hydrogen sulfide is formed when organic matter is degraded under anaerobic conditions, such as in sewage pipes. For the treatment of this gas, physical, chemical or biological technologies may be applied. The first two, due to need for chemical additives and the generation of toxic byproducts, have a high cost of treatment, in this way the biological technologies have gained space in the treatment of odors. The advantages of biological treatment range from the great cost-benefit, the generation of less toxic or inert by-products, ease of operation and maintenance, low energy requirements, even for being able to treat a wide variety of compounds. Biofiltration is a biological alternative and, however attractive, since it can efficiently treat H_2S , there are still some points to be studied and improved, such as knowledge of microorganisms that perform the transformation of this pollutant, its metabolic routes and the change in bacterial community according to variations in environmental conditions. From the above, this work had the purpose of evaluating the bacterial communities present in a biofiltration system that provide efficient treatment to the hydrogen sulfide. The main of this work were to evaluate the efficiency of removal of hydrogen sulfide (H_2S), to certify the improvement in the air quality of the affected region through olfactometric techniques, evaluate the influence of environmental conditions on the microbial community present in filter bed and determine the microorganisms that possibly perform treatment of sulfuric gas through molecular analyzes, specifically PCR (Polymerase chain reaction) and DGGE (Denaturing gradient gel electrophoresis). The biofilter was operated for 1224 days from July 2013 to December 2016. The hydrogen sulfide removal efficiency was stable over most of the operating period, reaching values up to 100%. With the reduction of hydrogen sulfide concentrations, there was a significant improvement in air quality of the region attested by sanitation company employees. The bacterial community present in biofiltration system presented dissimilarity regarding the environmental conditions, mainly in seasons of the year - winter and summer. The bacterial genera *Methylocystis sp.*, *Steroidobacter sp.* and *Bacillus sp.* were found.

Keywords: Odor treatment; Biofiltration; Hydrogen sulfide; Bacterial community.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Degradação de poluente no biofilme.	38
Figura 2 - Representação esquemática do ciclo do enxofre através de micro-organismos.	39
Figura 3 - Esquema do biofiltro automatizado.	46
Figura 4 - Vista frontal do biofiltro.	47
Figura 5 - Vista lateral do biofiltro.	47
Figura 6 - Enchimento dos sacos.	55
Figura 7 - Análise com olfatômetro Odile - 2000.	55
Figura 8 - Concentração de Sulfeto de hidrogênio e eficiência do sistema.	64
Figura 9 - Boxplot das concentrações de H ₂ S na entrada do sistema agrupadas pelas estações e distribuídas pelos anos de monitoramento.	65
Figura 10 - Boxplot das concentrações de H ₂ S na saída do sistema agrupadas pelas estações e distribuídas pelos anos de monitoramento.	67
Figura 11 - Boxplot das eficiências de remoção de H ₂ S distribuídas pelos anos de monitoramento.	68
Figura 12 - Umidade real e umidade da sonda RaindBird®.	69
Figura 13 – Boxplot da umidade dos painéis esquerdo e direito ao longo dos anos.	70
Figura 14 - Boxplot temperatura dos painéis esquerdo e direito durante os anos de monitoramento.	72
Figura 15 - Análise com olfatômetro Odile - 2000.	73
Figura 16 - Gráfico de intensidade odorante.	74
Figura 17 - Gráfico de caráter odorante.	75
Figura 18 - Perfil de bandas dos fragmentos amplificados pela técnica de DGGE.	77
Figura 19 - Análise estatística nMDS do gel da DGGE. Representação das amostras (variáveis).	78
Figura 20 - Dendograma de similaridade.	80
Figura 21 - Bandas sequenciadas.	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Limites olfativos para gases odorantes associados aos processos de tratamento de águas residuárias.	31
Tabela 2- Escala de intensidade de odor.	33
Tabela 3 - Principais fontes de odores em sistemas esgotamento sanitário.	35
Tabela 4 - Parâmetros físico-químicos analisados.	49
Tabela 5 - Análises olfatométricas.	52
Tabela 6 - Escala e diluições de 1-Butanol para análise de intensidade odorante.	53
Tabela 7 - Amostras de material filtrante para análise da comunidade bacteriana.	56
Tabela 8 - Reagentes utilizados na PCR.	57
Tabela 9 - Correlação de significância através dos intervalos de r_s	60
Tabela 10 - Estatística descritiva dos dados.	61
Tabela 11 - Coeficiente de correlação de Spearman (r_s).	63
Tabela 12 - Resultados NCBI-BLAST para as sequências retiradas das bandas do gel de DGGE.	103

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CASAN – Companhia Catarinense de Águas e Saneamento

CIOM – Centro Integrado de Operação e Manutenção

COV – Compostos Orgânicos Voláteis

DGGE – *Denaturing gradient gel electrophoresis* (Eletroforese em gel com gradiente desnaturante)

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EEE – Estação Elevatória de Esgotos

ENS – Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental

FINEP – Financiadora de Estudos e Projetos

LABEFLU – Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos

LCQAr – Laboratório de Controle da Qualidade do Ar

LIMA – Laboratório Integrado de Meio Ambiente

nMDS – *non-Metric multidimensional scaling* (Escalonamento Multidimensional Não – Métrico)

PCR – *Polymerase chain reaction* (Reação em Cadeia da Polimerase)

PVC – Policloreto de vinila

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

UV – Ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	23
2	OBJETIVOS	27
2.1	OBJETIVO GERAL	27
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
3.1	ODOR	29
3.1.1	PERCEPÇÃO DE ODORES	29
3.1.2	FATORES QUE INFLUENCIAM NO IMPACTO ODORANTE	32
3.2	ODORES PROVENIENTES DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO	34
3.2.1	GÁS SULFÍDRICO (H₂S)	35
3.2.2	TRATAMENTO DE H₂S POR BIOFILTRAÇÃO	36
4	MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1	BIOFILTRO	46
4.2	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	49
4.2.1	CÁLCULOS NAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	49
4.3	ANÁLISES OLFATOMÉTRICAS	52
4.4	IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA ATRAVÉS DO USO DE TÉCNICAS MOLECULARES	55
4.4.1	ANÁLISES MOLECULARES	55
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	59
5	RESULTADOS	61
5.1	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	61
5.1.1	CONCENTRAÇÃO DE H₂S	64
5.1.2	UMIDADE DA TURFA	69
5.1.3	TEMPERATURA	71
5.2	ANÁLISES OLFATOMÉTRICAS	72
5.2.1	OLFATOMETRIA DINÂMICA	72
5.2.2	INTENSIDADE E CARÁTER ODORANTE POR QUESTIONAMENTO	74
5.3	ANÁLISES MOLECULARES	76
5.3.1	PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) E DGGE (DENATURING GRADIENT GEL ELECTROPHORESIS)	76
5.3.2	NMDS (NON-METRIC MULTIDIMENSIONAL SCALING)	77
5.3.3	DEDOGRAMA DE SIMILARIDADE	79
5.3.4	SEQUENCIAMENTO SANGER	81

6	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	83
	REFERÊNCIAS.....	87
	APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO DE INTENSIDADE	
	ODORANTE	99
	APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO DE CARÁTER	
	ODORANTE.....	101
	APÊNDICE C - RESULTADOS NCBI-BLAST	103
	ANEXO A – SISTEMA DE OPERAÇÃO OLFATÔMETRO	
	ODILE – 2000.....	105
	ANEXO B - ESQUEMA DE CORRIDA DA PCR.....	107
	ANEXO C – ETAPAS DA DGGE	109

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Compostos odoríferos emitidos em grandes quantidades por fontes poluidoras afetam a qualidade do ar das áreas adjacentes a estas instalações, ocasionando incômodo a humanos e animais, e também provocando conflitos entre a população atingida e a fonte poluidora. As emissões de odores que resultam de atividades antrópicas podem ter efeito adverso na saúde do indivíduo e da sociedade como um todo. Essas emissões são poluentes do ar e estão sujeitas a controle e regulação (BRANCHER; DE MELO LISBOA, 2014).

Ainda que a emissão de gases odorantes não seja considerada uma causa direta de doenças, o mal-estar sentido em humanos pode variar entre dores de cabeça, náuseas, tonturas, perda de apetite, indisposição, chegando até em sintomas mais graves de problemas respiratórios (STUETZ; FRENCHEN, 2001; ZARRA et al., 2008).

Entre as fontes geradoras de odor devem-se destacar as indústrias, a gestão de resíduos, as atividades agrícolas e as estações de tratamento de esgoto. A implantação de técnicas para o tratamento de odores provenientes de sistemas de tratamento de águas residuárias é um dos ramos que tem crescido nos últimos anos, devido à recente aproximação destas instalações às zonas urbanizadas (BARBUSINSKI et al., 2017). Os gases odorantes comumente liberados por esses sistemas são normalmente compostos por sulfeto de hidrogênio, amoníacos e mercaptanas (BELLI FILHO et al., 2001).

Os gases sulfurosos, como o sulfeto de hidrogênio (H_2S), têm odor característico de ovo podre. Mesmo em baixas concentrações já podem causar danos à saúde devido à sua toxicidade. Além disso, ocasionam problemas às instalações de esgotamento sanitário pelo seu alto potencial de corrosão (PANTOJA FILHO et al., 2010). O limite máximo de exposição segura para o H_2S é de 10ppm, entretanto ele pode ser detectado em concentrações bem menores, em torno de 0,00047ppm (JIN; VEIGA; KENNES, 2005).

Para tratar o H_2S podem ser adotadas tecnologias físico-químicas, como condensação, membranas, mascaramento, oxidação, precipitação química, entre outras. No entanto, essas técnicas têm alto custo e geram subprodutos tóxicos, os quais necessitam por fim, de pós-tratamento. Frente a essas tecnologias, as alternativas biológicas difundiram-se mundialmente a partir da década de sessenta, com a vantagem de tratar grandes vazões de gás com baixas concentrações de poluentes e principalmente, por serem atrativas economicamente (ADLER, 2001).

Com o passar dos anos as alternativas biológicas foram aperfeiçoadas e hoje, as mais difundidas são: biolavador, biopercolador e biofiltração. Esses três métodos têm o mesmo princípio de tratamento, transferir os poluentes do estado de gás para outra fase, líquida ou sólida, onde os micro-organismos que estão ali aderidos fazem a conversão dos compostos odorantes em compostos menos tóxicos e até mesmo inertes, como dióxido de carbono, água e sais. Os processos que ocorrem dentro dos sistemas biológicos responsáveis pela transformação dos poluentes são: absorção, adsorção e degradação, do contaminante gasoso, e dessorção dos produtos oriundos da degradação (VERGARA, 2002).

Nesse trabalho a tecnologia escolhida foi a biofiltração. Essa técnica de tratamento se dá por uma corrente de ar que atravessa um leito preenchido com material poroso, onde o consórcio bacteriano está aderido e realiza a degradação dos poluentes. A biofiltração se destaca frente às outras tecnologias de tratamento devido a sua rápida aclimatação, ao seu baixo custo de instalação e operação, ao fato de dispensar (na maioria dos casos) o uso de produtos químicos. Além disso, consegue tratar uma grande variedade de poluentes. A biofiltração é um sistema com limitações, uma das limitações é que a eficiência está intimamente ligada às condições ambientais do meio, como temperatura e umidade. Quando as condições ambientais não são favoráveis aos micro-organismos, devido a sua sensibilidade estes podem se tornar inativos, o que por fim afeta compromete o sistema.

Por mais estudada e aplicada que a biofiltração seja, na literatura ainda se encontram lacunas. Uma das lacunas existentes é o pouco conhecimento sobre o consórcio microbiano presente nos sistemas de biofiltração e quais os micro-organismos realizam a conversão dos gases poluentes em substâncias inertes. A pesquisa focada nesse âmbito pode fornecer uma melhor compreensão da relação entre micro-organismos, condições ambientais e operacionais. Esse conhecimento pode contribuir para a estabilidade do sistema, fornecendo ferramentas de diagnósticos, controle e previsão para o funcionamento do reator (BRIONES; RASKIN, 2003).

Nesse contexto, esse trabalho foi desenvolvido com o intuito de investigar as relações entre a estrutura da comunidade bacteriana responsável pela degradação do sulfeto de hidrogênio e as variações das condições ambientais sofridas pelo sistema de biofiltração, além disso, foi avaliada a eficiência de remoção de H_2S e alteração da qualidade do ar da região, e dentro da microbiologia foi feita a determinação dos

micro-organismos que estão presentes nesse sistema e possivelmente realizam a conversão do sulfeto de hidrogênio em substâncias inertes.

O Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (ENS) da Universidade Federal de Santa Catarina desenvolve trabalhos no âmbito de tratamento de esgotos desde sua criação, e, para ampliar seus horizontes vem desenvolvendo estudos na área de poluição atmosférica proveniente dos sistemas de esgotamento sanitário. Assim, o LABEFLU, consegue fechar o ciclo dos sistemas de esgotamento sanitário, tratando todas as variantes de efluentes provenientes desses sistemas.

Esse projeto teve apoio financeiro da Financiadora de Estudos e Projetos (Finep). Foi desenvolvido pela Universidade Federal de Santa Catarina em parceria com a Multiágua, empresa privada do ramo de tratamento de efluentes. O sistema foi instalado na sede da Companhia Catarinense de Água e Saneamento (CASAN).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a comunidade bacteriana em sistema de biofiltração para tratamento de odores de estação elevatória de esgotamento sanitário.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Avaliar a eficiência de remoção do gás sulfídrico (H_2S);
- ❖ Certificar a melhora na qualidade do ar da região através de técnicas olfatométricas;
- ❖ Avaliar a influência das condições ambientais na microflora presente na camada filtrante;
- ❖ Determinar os micro-organismos que possivelmente realizam a conversão do gás sulfídrico no sistema de biofiltração.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ODOR

Para Nicell (2009), odor é uma sensação associada a um ou mais compostos que, quando presentes em concentrações perceptíveis, podem desencadear respostas olfativas nos indivíduos expostos. As respostas aos odores são altamente variáveis e podem resultar em uma grande variedade de efeitos sobre a saúde humana. O tipo e a concentração de moléculas detectadas pelas células olfativas variam de indivíduo para indivíduo, assim como de acordo com requisitos ambientais, como temperatura, umidade e pressão (KENNES; VEIGA, 2001).

Segundo Ranzato et al. (2012), a dispersão atmosférica de odores desagradáveis é considerada uma das principais causas de queixas públicas relativas à qualidade do ar. Apesar de não ser considerada uma causa direta de doenças, a exposição em longo prazo a compostos odorantes pode interagir com os receptores e ter um efeito negativo sobre o bem-estar humano, causando náuseas, dores de cabeça, insônia, perda de apetite e problemas respiratórios (NICELL, 2009; SUCKER et al., 2008; ZARRA et al., 2008).

Para Delhoménie e Heitz (2005) e Van Groenestijn e Kraakman (2005), as emissões odorantes aumentaram nas últimas décadas devido ao desenvolvimento em larga escala da economia mundial e se tornaram um problema de saúde pública nos países industrializados. Indústrias, incluindo sistemas de tratamento de água e esgoto, agricultura intensiva, instalações de processamento de alimentos e operações de gestão de resíduos, têm obrigação ambiental e social de garantir que suas atividades não afetem comunidades próximas (PARCSI et al., 2012). Para Nicell (2009), décadas de experiência mostraram que os odores devem ser incluídos na lista de contaminantes a serem regulados pelo governo. Ainda que as emissões gasosas odorantes tradicionalmente recebam menos atenção que a poluição ocasionada por líquidos e sólidos (LEBRERO et al., 2011b), nos últimos anos, muitos governos promulgaram leis com o objetivo de minimizar esse problema (FULAZZAKY et al., 2014). A seguir são apresentadas algumas propriedades importantes relacionadas ao estudo do odor.

3.1.1 Percepção de odores

Para McGinley et al. (2000) dos cinco sentidos, o olfato é o mais complexo e único em estrutura e organização. O sistema olfativo

emprega um papel maior como mecanismo de defesa, criando uma resposta de aversão aos odores irritantes.

Segundo Powers (2004), para que uma substância seja detectada como um odor pelas células receptoras, vários critérios devem ser seguidos:

- A substância deve ser volátil o suficiente para penetrar o ar próximo à área sensorial;
- A substância deve ser ao menos um pouco solúvel em água para passar pela membrana mucosa e pelas células olfativas;
- A substância deve ser lipossolúvel, devido ao fato dos cílios olfativos serem compostos primariamente por material lipídico;
- Um número mínimo de moléculas odorantes deve estar em contato com os receptores por certo período de tempo, permitindo as interações necessárias à percepção.

Quando um indivíduo é exposto a um odor existem dois limiares que ele pode identificar: o limiar de detecção, ou seja, a concentração mínima em que o odor já pode ser sentido, e o limiar de reconhecimento, a concentração mínima em que um odor já pode ser identificado pelas suas características (STUETZ; FRENCHEN, 2001). A seguir é apresentada a Tabela 1, adaptada de Belli Filho et al. (2001), com os limiares olfativos e as características marcantes dos principais compostos odorantes relacionados aos sistemas de esgotamento sanitário.

A Tabela 1 deixa em evidência que os compostos de enxofre possuem um valor associado ao limiar olfativo bem abaixo dos outros compostos, comprovando a facilidade de percepção desses gases pelo sistema olfativo humano.

Tabela 1 - Limites olfativos para gases odorantes associados aos processos de tratamento de águas residuárias.

Substância	Composto	Descrição do odor	Limiar olfativo mínimo
Enxofre	Gás Sulfídrico	Ovo podre	0,10
	Metilmercaptana	Repolho, alho	0,50
	Etilmercaptana	Repolho podre	1,00
	Dimetilsulfeto	Legume podre	2,50
	Dietilsulfeto	Etéreo	4,50
	Dimetildisulfeto	Pútrico	3,00
Nitrogênio	Amônia	Picante, irritante	500,00
	Metilamina	Peixe podre	2,10
	Etilamina	Picante, amoniacal	5,00
	Dimetilamina	Peixe podre	47,00
	Indol	Fecal, nauseante	0,60
	Escatol	Fecal, nauseante	0,80
Ácido	Cadaverina	Carne em decomposição	-
	Acético	Vinagre	25,00
	Butírico	Manteiga	0,40
Aldeídos e Cetonas	Valérico	Suor	0,80
	Formaldeído	Ocre, sufocante	33,00
	Acetaldeído	Maçã	40,00
	Butiraldeído	-	490,00
	Isovaleraldeído	Ranço	13,00
	Acetona	Fruta, maçã	72,00

Fonte: Adaptado de BELLI FILHO et al. (2001).

Os odores, sejam eles emitidos por fontes pontuais ou estando dispersos no ar, podem ser quantificados em termos de concentração através de métodos físicos ou químicos (NICELL, 2009).

A olfatométrica é a técnica que foi desenvolvida para medir a concentração do odor. Dentro dessa técnica, o método mais difundido para quantificação do odor é baseado no princípio de diluição por limiar.

De acordo com esse princípio, a amostra odorante é descrita em termos do volume no qual a amostra deve ser diluída, até que a concentração do odor atinja o limiar mínimo de percepção, tornando-se perceptível a 50% dos jurados (NICELL, 2009). O número de diluições requeridas é descrito como concentração do odor, e pode ser expresso em unidades de odor por metro cúbico (UO.m^{-3}), ou, simplesmente, unidades de odor (UO). A concentração do odor sozinha pode não ser um fator impactante, outros fatores influenciam na dispersão e na percepção dos odores pelo sistema olfativo.

3.1.2 Fatores que influenciam no impacto odorante

O impacto que o odor tem na qualidade de vida é alto, sendo resultado de uma combinação de fatores conhecidos como FIDOL; ou seja, frequência (F), intensidade (I), duração (D), ofensividade (O) e localização (L). Esses fatores são diretamente proporcionais ao efeito negativo na vida dos indivíduos e podem ser usados como base para investigação de odor e avaliação de impactos odorantes (BRANCHER; DE MELO LISBOA, 2014; FREEMAN; CUDMORE, 2002).

❖ Frequência

A frequência é a quantidade de vezes que um indivíduo é exposto a um odor no ambiente. Esse fator é influenciado pelas características da fonte e da emissão odorante, mas também pelas características meteorológicas e topográficas da região, e ainda, pela distância entre a fonte da emissão e o indivíduo afetado (NICELL, 2009).

❖ Intensidade

A intensidade de um odor refere-se à força ou à percepção do odor por um indivíduo (RIBEIRO, 2003).

A quantificação de odor pode ser feita através do uso de escalas de intensidade, em que a intensidade constatada de um odor corresponde à intensidade de outro produto padrão, normalmente n-butanol ou sec-butanol. A norma alemã *Verein Deutscher Ingenieure – Olfactometry - 3882 (I)* (VDI, 1992) padroniza uma escala de intensidade (Tabela 2), a qual exige que o júri correlacione a intensidade de um odor percebido com uma escala de concentrações de 1-butanol previamente conhecida.

Tabela 2- Escala de intensidade de odor.

Odor	Nível de Intensidade
Muito forte	5
Forte	4
Moderado	3
Fraco	2
Muito fraco	1
Não perceptível	0

Fonte: VDI (1992).

Na Tabela 2 observa-se que as concentrações do composto de referência variam de não perceptível a muito forte, sendo que cada ponto na escala tem um valor numérico associado. Assim, o jurado deve correlacionar a intensidade do odor sentido com a escala numérica do composto de referência apresentada a ele anteriormente.

❖ Duração

A duração de um odor refere-se ao tempo que um indivíduo fica exposto à uma concentração odorante, e está diretamente relacionada ao tipo de emissão, a localização da fonte e as condições meteorológicas do local. O indivíduo pode ser exposto a um odor de forma intermitente por períodos curtos, ou de forma ininterrupta por longos períodos, podendo até mesmo ser permanente. Normalmente, quanto maior a duração da exposição maior é o impacto que este odor terá na vida do indivíduo (NICELL, 2009).

❖ Ofensividade

A ofensividade de um odor é uma classificação subjetiva da sua agradabilidade (NICELL, 2009). A intensidade do odor não contabiliza a ofensividade do mesmo, por exemplo, dois odores, com fontes distintas, podem ter a mesma intensidade em números, entretanto, não terão necessariamente a mesma ofensividade.

Alternativamente, a natureza ou o caráter do odor também pode ser avaliado. O caráter do odor é uma medida inconsciente, já que os estímulos do odor sentido remetem a uma lembrança de outra

substância, como cheiro de ovo podre, peixe, flores entre outros. (STUETZ; FRENCHEN, 2001).

❖ Localização

A localização representa o tipo de área que um indivíduo afetado pelo odor vive, trabalha ou visita, o tipo de atividade desenvolvida e a sensibilidade de recebimento individual. Por isso, a localização é um fator primordial para avaliar a probabilidade de ocorrer um efeito adverso em um indivíduo ou uma comunidade por conta de um odor (BRANCHER; DE MELO LISBOA, 2014).

3.2 ODORES PROVENIENTES DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO

Em virtude das leis ambientais mais rígidas, da invasão de áreas residenciais e das expectativas da população em relação às obrigações das companhias de saneamento, as reclamações consequentes de odores oriundos dos sistemas de tratamento de águas residuárias aumentaram substancialmente nas últimas décadas e são uma das principais preocupações da população que vive adjacente a esses sistemas (ALFONSÍN et al., 2015; LEBRERO et al., 2011b; OMRI et al., 2011).

A formação e consequente emissão de gases pelos sistemas de esgotamento sanitário estão associadas à decomposição biológica da matéria orgânica. Essas emissões colocam em risco à saúde humana e danificam o sistema devido à corrosão dos equipamentos (SHAW; KOH, 2012; STUETZ; FRENCHEN, 2001; ZARRA et al., 2008).

Além dos odores emitidos na etapa de tratamento, comumente sentidos, a etapa de transporte também produz gases mal odorantes, em virtude da degradação anaeróbia da matéria orgânica que ocorre dentro das tubulações e estações elevatórias (CONZALEZ et al., 2006). A Tabela 3 apresenta as principais etapas geradoras de gases odorantes nos sistemas de esgotamento sanitário.

Tabela 3 - Principais fontes de odores em sistemas esgotamento sanitário.

Tratamento	Etapa de tratamento
Pré-tratamento de esgotos	Estação elevatória
	Tanque de desarenação
	Caixa de gordura
Tratamento de lodo	Mistura
	Estabilização
	Desidratação
	Disposição final

Fonte: Adaptado de Conzalez et al. (2006).

Como apresentado na Tabela 3, as principais fontes de odores em sistemas de esgotamento sanitário são as etapas de pré-tratamento e tratamento do lodo. Nessas etapas a degradação da matéria orgânica em anaerobiose é a principal fonte de gases odorantes.

Para Stuetz e Frenchen (2001), os odores emitidos associados à digestão anaeróbia da matéria orgânica são um complexo de substâncias. Dentre elas pode-se destacar gás sulfídrico, amônia, metil-mercaptanas, aminas com baixo peso molecular, indol, escatol, ácidos graxos voláteis, álcoois, aldeídos, cetonas e ésteres (BELLI FILHO et al., 2001; SYED et al., 2006).

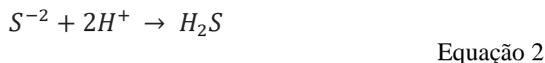
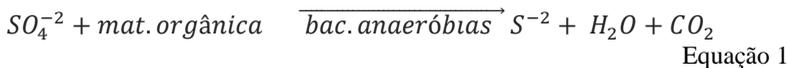
O gás sulfídrico, foco desse trabalho, também conhecido como sulfeto de hidrogênio, normalmente é emitido por fontes naturais, mas também pode ser emitido por atividades antropogênicas, como os sistemas de tratamento de esgoto sanitário (COLOMER; MORATÓ; IGLESIAS, 2012; DUMONT; ANDRÈS, 2010).

3.2.1 Gás sulfídrico (H_2S)

Para Pantoja Filho et al. (2010) e Xu et al. (2016), o H_2S tem como característica marcante o odor de ovo podre, é incolor e solúvel em água. Além dessas características, é corrosivo e tem um alto nível de toxicidade. A percepção do sulfeto de hidrogênio pelo sistema olfativo humano já ocorre em baixas concentrações, em torno de 0,00047ppmv, como pode ser observado na Tabela 1 (OYARZUN et al., 2003). Para Sigurdsson et al. (2015), onde esse gás se faz presente há risco eminente para saúde humana, pois até

mesmo em concentrações próximas ao limiar olfativo, a inalação de H_2S pode causar náusea, dor de cabeça, tontura e sonolência (KIM; RENE; PARK, 2008). Não obstante, após longos períodos de exposição à baixas concentrações, os sistemas respiratório, cardiovascular e nervoso podem ser afetados (BATES et al., 2013).

A formação do sulfeto de hidrogênio pode ocorrer por duas vias: a redução de sulfato e a dessulfurização de compostos orgânicos contendo enxofre reduzido (HARKNESS, 1979). Para Cheremisinoff (1992) e Van Langenhove (1986), a formação do H_2S em condições anaeróbias, nos sistemas de coleta e transporte de esgoto sanitário, ocorre pela redução de sulfato em sulfeto, o qual é emitido na forma de sulfeto de hidrogênio em condições de pH ácidas ou neutras. A formação do sulfeto de hidrogênio nessas condições pode ser expressa através das equações simplificadas 1 e 2 apresentadas abaixo.



Para Dumont e Andrès (2010), nos sistemas de tratamento de águas residuárias, a produção do H_2S gera problemas de corrosão nos sistemas, além de tornar o ambiente de trabalho e as regiões próximas insalubres para a população. Quando esse gás é formado e emitido em baixas concentrações, nos sistemas de tratamento de águas residuárias, o tratamento do odor pode ser feito através de técnicas biológicas, como a biofiltração.

3.2.2 Tratamento de H_2S por biofiltração

A biofiltração faz parte das tecnologias biológicas para o tratamento de odores, essas tecnologias são consideradas ambientalmente corretas, uma vez que não produzem subprodutos tóxicos, requerem pouca ou nenhuma energia e aditivos, e também por possuírem um ótimo custo \times benefício (ALFONSÍN et al., 2015; SCHLEGELMILCH; STREESE; STEGMANN, 2005). Por isso, nas últimas décadas, as tecnologias biológicas aplicadas ao tratamento de odores ganharam força e tornaram-se alternativas aos tratamentos físico-

químicos (ESTRADA et al., 2012; REVAH; MORGAN-SAGASTUME, 2005).

Dentre as alternativas biológicas, os biofiltros são os que reúnem o maior conjunto de vantagens para o tratamento de gases provenientes de sistemas de tratamento de águas residuárias, quando considerados fatores como tratamento efetivo dos gases odorantes, sustentabilidade, simplicidade e baixos custos de implantação e operação (ALFONSÍN et al., 2013; CHERNICHARO, 2010).

Biofiltros são reatores com leito fixo, biomassa imobilizada e fase líquida estacionária, em que os poluentes são transformados em compostos menos tóxicos ou inertes através da atividade microbiana (OTTENGRAFF et al., 1987). A biofiltração é a configuração de biorreator mais antiga, e ainda assim é uma tecnologia que consegue ser aplicada a uma ampla variedade de poluentes e concentrações, tratando desde pequenas emissões mal odorantes, emissões de sistemas de esgotamento sanitário e, até mesmo, emissões industriais (HERNÁNDEZ et al., 2010; KENNES; RENE; VEIGA, 2009; LEBRERO et al., 2010).

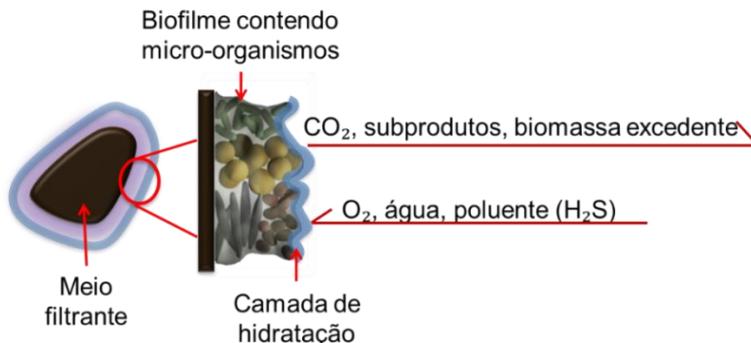
Dentre os fatores limitantes para aplicação de biofiltros pode-se destacar o poluente, a concentração do mesmo e a vazão da corrente gasosa que entra no sistema. Esses fatores limitantes podem inibir a microbiota presente no biofiltro, colapsando o sistema de tratamento. (FULAZZAKY et al., 2014; OMRI et al., 2011; KENNES; RENE; VEIGA, 2009).

Os gases mal odorantes que podem ser tratados por sistemas de biofiltração incluem os compostos inorgânicos, como H_2S e NH_3 e os compostos orgânicos voláteis (COV). Esses gases são comumente encontrados em estações de tratamento de esgotos (LEBRERO et al., 2010; LEE et al., 2013; SHAREEFDEEN, 2011).

Para Fulazzaky et al. (2014), Omri et al. (2011), Kennes, Rene e Veiga (2009), a biofiltração permite o tratamento de gases com grandes vazões e baixas concentrações de poluentes, podendo ter uma eficiência de remoção de odores de até 99%. Para melhor eficiência desses sistemas, recomenda-se que as concentrações de poluentes a serem tratados não ultrapasse 6 g.m^{-3} , já que altas concentrações podem inibir o crescimento de micro-organismos (KENNES; RENE; VEIGA, 2009; VAN GROENESTIJN; HESSELINK, 1993).

Para Fulazzaky et al. (2014), o tratamento dos gases por biofiltração ocorre através da transferência de produtos químicos gasosos para a fase líquida que envolve o meio filtrante, onde os micro-organismos degradam os poluentes químicos no biofilme (Figura 1).

Figura 1- Degradação de poluente no biofilme.



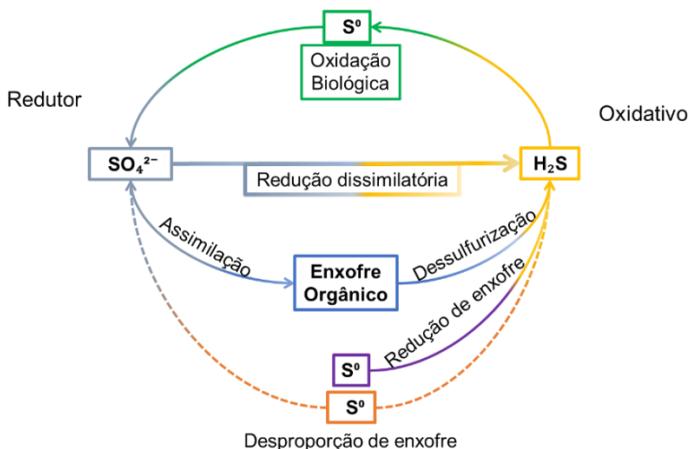
Fonte: Adaptado de Fulazzaky et al. (2014).

A corrente de ar carregada com poluentes atravessa o leito poroso no qual micro-organismos estão aderidos em forma de biofilme (DUMONT; ANDRÈS, 2010; GAUDIN; ANDRE; LE CLOIREC, 2008; LEBRERO et al., 2011b). Através de uma combinação de processos como: adsorção, pelo material filtrante, absorção, adsorção e degradação, do contaminante gasoso, e dessorção dos produtos oriundos da degradação, os poluentes são removidos do sistema. O poluente gasoso entra em contato com a camada de hidratação e se solubiliza, sendo adsorvido pelos micro-organismos que estão aderidos no biofilme, nessa camada ocorre a degradação biológica do poluente. O meio filtrante, em função da sua superfície de contato, absorve uma parte do poluente. Os subprodutos gerados são o gás carbônico, resultante da respiração celular, gases inertes ou menos tóxicos e a biomassa excedente, proveniente dos micro-organismos mortos (CHENG et al., 2016; VERGARA, 2002).

Os micro-organismos são a chave do processo de degradação dos poluentes no biofiltro. Para que essa microbiota tenha viabilidade de crescimento, o sistema deve proporcionar disponibilidade de nutrientes, retenção de umidade e capacidade de tamponamento (SYED et al., 2006).

O sulfeto de hidrogênio produzido nos sistemas de tratamento de águas residuárias pode ser degradado por um consórcio microbiano em sistemas de biofiltração, a Figura 2 apresenta um esquema do ciclo do enxofre e a oxidação biológica que este composto sofre através das rotas metabólicas dos micro-organismos.

Figura 2 - Representação esquemática do ciclo do enxofre através de micro-organismos.

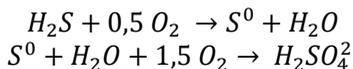


Fonte: Adaptado de Tang, Baskaran e Nemati (2009).

O ciclo do enxofre pode ser oxidativo ou redutor. No lado redutor, o sulfato funciona como receptor de elétrons nas vias metabólicas utilizadas por uma gama de micro-organismos, e por fim, é convertido em sulfeto. No lado oxidativo, os compostos de enxofre reduzido, como sulfeto, servem como doadores de elétrons para bactérias, fototróficas ou quimiolitotróficas, que convertem estes compostos em enxofre elementar ou sulfato (ROBERTSON; KUENEN, 2006). Quando os lados, redutor e oxidativo, não estão em equilíbrio pode ocorrer a acumulação de compostos intermediários, tais como enxofre, sulfeto de hidrogênio ou sulfato. A desproporção de enxofre é realizada por bactérias redutoras de sulfato e outras bactérias altamente especializadas que resultam na formação simultânea de sulfato e sulfeto (BAK; PFENNIG, 1987).

Nos sistemas de biofiltração os micro-organismos aderidos ao meio filtrante oxidam o H₂S, já que este composto serve como fonte de energia e elétrons. Por fim, o gás sulfídrico é convertido em compostos inodoros, como enxofre elementar ou sulfatos, por bactérias litotróficas (CHOUARI et al., 2015; KIM; DESHUSSES, 2005; TANG; BASKARAN; NEMAT, 2009). A oxidação do sulfeto de hidrogênio em ácido sulfúrico resultará em uma redução significativa do pH e um aumento importante de sulfatos no percolado (Equação 3), uma vez que

a composição do percolado depende diretamente da atividade bacteriana presente na camada filtrante (CHOUARI et al., 2015; JIN; VEIGA; KENNES, 2005; TANG; BASKARAN; NEMATI, 2009).



Equação 3

Um considerável número de gêneros bacterianos é conhecido por oxidar compostos de enxofre nos sistemas de biofiltração: *Thiobacillus Thiomicrospira*, *Thiosphaera*, *Sulfolobus*, *Thiomonas Thiobacterium*, *Macromonas*, *Thiospira*, *Pseudomonas* e *Paracoccus* (BARBOSA et al., 2006; OMRI et al., 2011; TANG; BASKARAN; NEMATI, 2009).

A redução da eficiência de tratamento do gás sulfídrico está relacionada aos problemas que a tecnologia de biofiltração pode desenvolver. Dentre eles deve-se destacar a distribuição desigual de água e de gás como resultado da acumulação de biomassa, a perda de carga, a degradação do leito filtrante e as condições não favoráveis à atividade microbiana. Esses problemas são comumente vistos em leitos filtrantes orgânicos de baixo custo e durante o tratamento de altas cargas de poluentes por um longo período (DEVINNY; DESHUSSES; WEBSTER, 1998; ESTRADA et al., 2013; WANG et al., 2014).

A estabilidade funcional é uma das principais preocupações do design do biorreator, especialmente quando o sistema é operado em escala real. A investigação de possíveis ligações entre as flutuações ambientais e a estrutura da comunidade microbiana é uma das questões mais desafiadoras em ambientes naturais e de engenharia (BRIONES; RASKIN, 2003). Os sistemas de biofiltração bem-sucedidos em escala real devem ser duradouros e econômicos para que a técnica ganhe competitividade diante das alternativas de tratamento (HERNÁNDEZ et al., 2010).

Nos sistemas de biofiltração, a performance de remoção do contaminante é afetada não só pelas propriedades físico-químicas destes, incluindo a solubilidade em água, a constante da lei de Henry, a estrutura molecular do contaminante e a vazão de gás, mas também pela presença de micro-organismos (DESHUSSES; HAMER; DUNN, 1996; KUMAR; RAHUL; CHANDRAJIT, 2011). Para além dos fatores determinados pelo contaminante, tem-se os fatores limitantes do sistema, como temperatura, meio filtrante, teor de umidade e pH (HONG; PARK, 2005).

❖ Meio filtrante

Para Anet et al. (2013) e Gutiérrez-Acosta et al. (2012), os meios filtrantes são definidos como meios sólidos onde os micro-organismos se aderem para formar o biofilme, sendo assim, a principal função do meio filtrante é prover uma superfície de fixação e crescimento para os o consórcio microbiano. Além disso, serve como reservatório de água, poluentes e nutrientes por adsorção no meio e por absorção de água nos poros (CHENG et al., 2016).

Para Anet et al. (2013), Dumont e Andrès (2010), Gaudin, Andres e Le Cloirec (2008), a escolha do meio filtrante adequado é o primeiro passo para um sistema eficiente, portanto as propriedades físico-químicas do material devem ser levadas em consideração. As qualidades esperadas para um meio filtrante são:

- Grande área superficial para fixação da biomassa e para melhorar a transferência externa de poluentes, nutrientes e oxigênio;
- Alta porosidade e alta fração de vazios para promover o desenvolvimento de micro-organismos, favorecendo a distribuição do fluxo de gás e limitando o entupimento;
- Boa capacidade de retenção de umidade, pequena perda de pressão, resistência mecânica e alta capacidade de tamponamento para evitar flutuações de pH;
- Capacidade de fornecer nutrientes para biomassa;
- Possibilitar o crescimento de uma população microbiana densa e diversificada;
- Ser quimicamente inerte e estável;
- Baixo custo e longa vida útil.

Vários estudos têm demonstrado que o poluente é biologicamente degradado nos primeiros 30% do leio filtrante e nos 70% restantes ocorre a purificação da corrente de ar, independentemente da natureza do material filtrante (LEBRERO et al., 2011a).

Os biofiltros podem ser preenchidos com material orgânico ou inorgânico, a escolha depende do tamanho das partículas, do poluente a ser tratado, da concentração do mesmo, da vazão de ar e do investimento. Os meios filtrantes orgânicos compreendem uma quantidade de resíduos orgânicos que são utilizados como fonte de nutrientes pelos micro-organismos. Entretanto, a atividade microbiana

pode ser comprometida devido à distribuição irregular de água e à deterioração do material filtrante. Esses problemas podem ocasionar perda de eficiência na biodegradação de poluentes, compactação do meio, queda de pressão do sistema, aumento dos custos com energia e redução da vida útil do leito filtrante ao longo do tempo (ESTRADA et al., 2013; KENNES; VEIGA, 2001). Já os meios inorgânicos têm maior resistência mecânica, mas necessitam de inoculação. Além disso, a capacidade de adsorção desses materiais é reduzida frente ao material orgânico, pois este possui mais grupos reativos (carboxila, amino, hidroxila) localizados na superfície do material (CHENG et al., 2016; GUTIÉRREZ-ACOSTA et al., 2012; MALHAUTIER et al., 2005). O meio filtrante, seja ele orgânico ou inorgânico, tende a perder porosidade, seja pelo longo tempo de operação ou pelo aumento demasiado na carga de poluente (YANG et al., 2011).

Em biofiltros os principais materiais orgânicos utilizados como meio suporte são solos e turfa (RAMÍREZ et al., 2009), casca de pinus, cavaco de madeira e fibra de coco (ANET et al., 2013). Dentro dos materiais sintéticos estão o poliuretano (GUTIÉRREZ-ACOSTA et al., 2012), o carvão ativado que resulta em um bom desempenho do sistema, entretanto tem custo elevado (CHUNG et al., 2005), xisto expandido e pozolana (ANET et al., 2013).

❖ pH

O pH afeta a atividade microbiana e, conseqüentemente, a degradação dos poluentes. Nos sistemas de biofiltração a faixa de pH varia entre 6 a 7 para o tratamento de compostos orgânicos voláteis e compostos voláteis de enxofre. Entretanto, quando se faz o tratamento de alguns compostos específicos como o gás sulfídrico, o pH pode decair a uma faixa de 2 a 3, indicando que há degradação do material filtrante e a formação de ácido sulfúrico no efluente percolado. Porém o pH ácido não afeta a remoção eficiente do H₂S e os micro-organismos presentes no sistema são resistentes a esses valores (KENNES; RENE; VEIGA 2009; SHAMMAY et al., 2016).

❖ Temperatura

Durante muitos anos as técnicas de biofiltração foram limitadas a operar sob condições de temperatura amenas, 25°C a 35°C, devido às características mesofílicas da população microbiana estabelecida no

meio suporte. Quando ocorria queda de temperatura para 20°C, acreditava-se que a atividade bacteriana era reduzida à metade, ou seja, era como se os micro-organismos entrassem em estado de latência (KENNES; RENE; VEIGA, 2009; MORALES et al., 2012; SHAMMAY et al., 2016). Entretanto, segundo Park, Choi e Hong (2002), os micro-organismos não são afetados instantaneamente pela queda de temperatura e os biofiltros conseguem operar normalmente em condições de temperatura que variam de 10 a 40°C.

Como a reação de biodegradação é exotérmica, as variações de temperatura no filtro também são consequência da atividade microbiana. A quantidade de energia liberada pela reação biológica pode atingir 50 kcal.h⁻¹, o que influencia em diferentes gradientes de temperatura dentro do leito da ordem de 2 a 4°C e, às vezes, podem atingir 10°C para altas concentrações de entrada de compostos odorantes (DÉLHOMENIE; HEITZ, 2005; HWANG et al., 2002).

❖ Umidade

O teor de umidade ótimo é afetado pelas condições ambientais do sistema e pelas características físico-químicas do meio. Geralmente o valor de umidade recomendando é de 40% a 60%, dependendo da capacidade de retenção do meio escolhido (MCNEVIN; BARFORD, 2000; SHAMMAY et al., 2016). De acordo com Bohn e Bohn (1999), para biofiltro com meios filtrantes orgânicos, o teor de umidade de 50% a 60% produz um bom desempenho do biofiltro, dependendo da densidade aparente, do tamanho das partículas e dos poros e da quantidade e natureza do material. Para Kennes e Veiga (2001), na maioria dos estudos de sistemas de biofiltração, a umidade do leito filtrante varia entre 20% e 60%, já nos estudos de Gaudin, Andres e Le Cloirec (2008), o teor de umidade variou entre 50% e 70%.

A concentração de umidade abaixo do limite mínimo, afeta o desempenho do sistema, já que prejudica a formação do biofilme, além de secar o leito filtrante, tornando-o quebradiço, criando fissuras e caminhos preferenciais, onde o gás passa sem ser tratado. Em contrapartida, o excesso de irrigação promove a formação de zonas anaeróbias com limitação de transferência de massa e aumento da perda de carga, o que favorece a compactação e o entupimento do meio, formando uma barreira para a passagem de oxigênio o que acaba limitando a taxa de reação do biofilme (ARMEEN et al., 2008; GUTIÉRREZ-ACOSTA et al., 2012; KRAILAS; PHAM, 2002).

❖ Micro-organismos

A comunidade microbiana estabelecida em um biofiltro é complexa, constituída por bactéria, fungos, actinomicetos e algas. Adapta-se às condições locais de pH, umidade e concentrações, e cresce como biomassa anexada a uma matriz orgânica principalmente constituída de exopolissacarídeos, conhecida como biofilme (CABROL et al. 2010; OTTENGRAF et al., 1987). A função da comunidade microbiana é degradar os poluentes em compostos menos tóxicos, até mesmo inertes (DELHOMÉNIE; HEITZ, 2005).

A aclimação dos micro-organismos no biofiltro é um período crítico que influencia o funcionamento do mesmo em longo prazo. O processo de aclimação é amplamente dinâmico, pois refere-se à seleção dos micro-organismos dominantes que emergem do próprio meio filtrante, quando este é orgânico, ou do inóculo quando o meio é inorgânico (CABROL et al., 2012).

Quando o biofiltro é destinado ao tratamento de gás sulfídrico, os principais micro-organismos encontrados no meio filtrante são as bactérias sulfurosas. Tradicionalmente, os gêneros de bactérias encontrados nessas condições são capazes de usar compostos de enxofre reduzido como fonte energia, como *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Thiosphaera*, *Sulfolobus*, *Thiomonas Thiobacterium*, *Macromonas e Thiospira*. Além desses, os gêneros *Paracoccus*, *Hyphomicrobium*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas* e *Hydrogenobacter* também são capazes de usar compostos de enxofre reduzidos como fonte de energia (SYED et al., 2006; TANG; BASKARAN; NEMATI, 2009). Entretanto nos estudos de Omri et al. (2011), Xie et al. (2009), os grupos bacterianos que mais apareceram foram *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus* e *Moraxellaceae*. Esses grupos não são conhecidos por oxidar o H₂S em condições normais, mas nesses estudos, foram esses grupos que converteram o sulfeto de hidrogênio em compostos menos tóxicos ou inertes, conferindo aos sistemas de biofiltração eficiências de remoção da ordem de 98%.

Embora a remoção biológica de H₂S em sistemas de tratamento de esgotos tenha sido amplamente estudada, Li et al. (2013) ainda sugere que mais estudos sobre a comunidade bacteriana de biofiltros sejam feitos para monitorar a dinâmica da população microbiana durante a remoção desse composto. As abordagens moleculares usadas para estudar a comunidade bacteriana nas estações de tratamento de esgoto, demonstraram que a maioria dos micro-organismos cultivados tem menor relevância *in situ* que outros micro-organismos, muitas vezes

ainda não cultiváveis e que são responsáveis por grande parte dos processos biológicos que ali ocorrem (WAGNER; LOY, 2002).

O biofiltro quando bem dimensionado pode ser o principal sistema de tratamento de odores em um sistema de esgotamento sanitário por proporcionar alta eficiência de remoção do gás sulfídrico (DUMONT; ANDRÈS, 2010; KIM; RENE; PARK, 2008; OYARZÚN et al., 2003).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento desenvolvido nessa pesquisa utilizou a técnica de biofiltração para o tratamento de odores provenientes de uma estação elevatória de esgotos. O sistema entrou em operação em julho de 2013 e foi acompanhado até dezembro de 2016, totalizando 1224 dias de monitoramento do sistema.

O biofiltro em escala real foi instalado em uma estação elevatória de esgotos de grande porte na cidade de Florianópolis, Santa Catarina. O local foi escolhido para a instalação, pois a estação elevatória encontra-se no meio de uma zona residencial e próxima a um ponto turístico da cidade. O odor, proveniente da instalação, estava gerando um incômodo tanto para a população, quanto para os trabalhadores da companhia de água e esgoto, além do problema econômico devido à depreciação imobiliária.

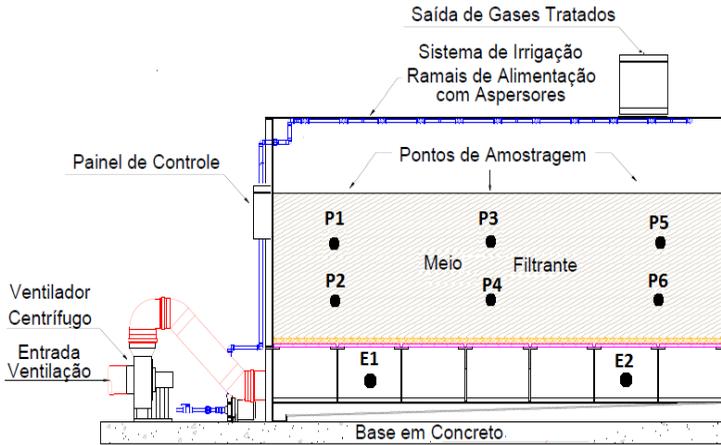
O principal diferencial desse biofiltro é ser automatizado, o que diminui a necessidade de intervenção humana no sistema. O material filtrante escolhido foi a turfa-flor, material orgânico, de baixo custo e fácil de ser encontrado.

Os parâmetros físico-químicos analisados foram pH, temperatura, umidade, vazão, concentração de gás sulfídrico *in loco*. A concentração odorante foi determinada através de olfatométrica dinâmica em laboratório, intensidade e caráter odorante. A análise dos parâmetros físico-químicos deve estar associada à biodegradação microbiana para melhorar o controle e manter a máxima eficiência dos biofiltros (LI et al., 2013), portanto, nesse estudo foram realizadas análises microbiológicas de PCR (*Polymerase chain reaction*) seguido da DGGE (*Denaturing gradient gel electrophoresis*), para verificar a comunidade bacteriana que estava presente no sistema.

4.1 BIOFILTRO

O sistema de tratamento é constituído por um biofiltro modular automatizado o qual está instalado ao lado de uma estação elevatória de esgotos (EEE) de grande porte. O esquema do biofiltro é apresentado na Figura 3.

Figura 3 - Esquema do biofiltro automatizado.



Fonte: Autor.

A estação elevatória encontra-se dentro da unidade operacional chamada de Centro Integrado de Operação e Manutenção (CIOM, que faz parte da Companhia Catarinense de Águas e Saneamento (CASAN). Esta EEE tem funcionários que trabalham diariamente, incluindo finais de semana. A Figura 4 apresenta a vista frontal do biofiltro e Figura 5 a vista lateral do sistema.

Figura 4 - Vista frontal do biofiltro.



Fonte: Autor.

Figura 5 - Vista lateral do biofiltro.



Fonte: Autor.

O dimensionamento do sistema foi feito pelo número de renovações de ar do poço úmido da estação elevatória de esgoto. O poço tem um volume de 142 m^3 e faz cinco renovações por hora, então, a vazão nominal de gás é de $710 \text{ m}^3/\text{h}$, podendo variar de acordo com a estação do ano e o horário do dia.

O sistema de tratamento é modular com o intuito de facilitar a instalação, o transporte e a comercialização, e caso haja a necessidade de ampliação do sistema, podem ser instalados módulos em paralelo.

A estrutura do biofiltro é de aço carbono galvanizado a fogo, para evitar a corrosão em ambientes suscetíveis a esta intempérie, suas paredes e telhado foram construído em polipropileno.

Em relação ao material filtrante, optou-se pela turfa natural tipo flor com diâmetro dos grãos variando entre 7 e 12 mm. A camada filtrante tinha 1 m de espessura, totalizando 6 m³ de volume útil. A turfa foi assentada sobre uma camada suporte de cavaco de madeira com espessura de 0,15 m.

Para que os gases fossem direcionados corretamente para o sistema de tratamento, a estação elevatória foi isolada e os gases são exauridos através de uma tubulação de PVC de 200 mm de diâmetro para o fundo falso do biofiltro. Com a intenção de que os gases entrassem na tubulação, foi instalado um ventilador centrífugo industrial de 0,5 CV na entrada do biofiltro, este ventilador sugava os gases da estação através da tubulação de PVC, direcionando-os para o tratamento. Como o sulfeto de hidrogênio tem propriedades corrosivas, a carcaça e o rotor do ventilador foram fabricados em fibra de vidro, evitando assim o desgaste dos mesmos.

A distribuição do gás no fundo falso se dava por orifícios na camada suporte, os quais direcionavam o gás de maneira igualitária a todas as partes da camada filtrante. Posteriormente, os gases já tratados saem pela chaminé localizada na parte superior do biofiltro.

O sistema de tratamento contava com irrigação automatizada através de sondas da marca Rainbird®, as quais mediam a umidade relativa, a condutividade e a temperatura da camada filtrante. O acionamento da bomba de irrigação (potência de ¾ CV) era comandado pelos sensores localizados em dois pontos dentro da camada filtrante (face Sul e face Norte do biofiltro), os quais enviavam um sinal para o temporizador assim que a turfa chegava a uma umidade relativa crítica estabelecida pelos operadores. O tempo de irrigação também era pré-estabelecido por quem operava o biofiltro. A água para irrigação era fornecida pela rede pública de abastecimento e a distribuição ocorria por aspersores que ficavam próximos ao teto do biofiltro, formando uma “nuvem” de água, tornando assim a irrigação uniforme.

Devido à irrigação, o biofiltro continha um sistema de drenagem para descartar o percolado. O sistema de drenagem era composto por uma calha no interior do biofiltro e por um registro tipo esfera, o qual

direcionava o efluente para a parte externa. Esse efluente era o excesso de água irrigada sobre o leito filtrante.

Na parte lateral, o biofiltro contava com oito pontos de inspeção, os quais serviam para monitoramento das concentrações de H_2S e coleta de material filtrante para ensaios laboratoriais.

4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas foram feitas rotineiramente a fim de garantir a estabilidade do sistema para evitar perdas de eficiência. Os métodos utilizados e a frequência de análise são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros físico-químicos analisados.

Parâmetro analisado	Método	Frequência	Número de amostras
Concentração de H_2S	Analisador de sulfeto de hidrogênio Jerome®, modelo 631-X	5x por semana	803
Vazão de gás	Anemômetro KIMO®, modelo MP-200	2x por semana	88
Controle de Umidade	Sonda RainBird®, modelo SMRT-Y	5x por semana	803
Temperatura	Sonda RainBird®, modelo SMRT-Y	5x por semana	803

4.2.1 Cálculos nas análises físico-químicas

❖ Concentração de H_2S

A proporção do sulfeto de hidrogênio foi mensurada através do aparelho Jerome®, modelo 631-X *Hydrogen Sulphide Analyzer*, fabricado *Arizona Instruments*. Esse aparelho mede a proporção de gás sulfídrico numa faixa de 0,001 ppm a 50 ppm. Portanto, para conhecer a concentração de H_2S foi utilizada a equação de *Clapeyron*, também conhecida como equação dos gases ideais, (Equação 4) para fazer conversão da proporção (ppm) de H_2S dada pelo aparelho em concentração ($mg.m^{-3}$).

$$P.V = n.R.T$$

Equação 4

Onde:

P = Pressão atmosférica (atm);

V = Volume do gás (litro);

n = Número de mols da amostra;

R = Constante universal dos gases perfeitos;

T = Temperatura (K).

❖ Teor de Umidade

Após um período de análises verificou-se que a sonda RainBird® não fornecia a umidade real do sistema, e para saber se a umidade do sistema estava de acordo com a literatura foram feitas análises do teor de umidade em estufa. As análises foram feitas no Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA) nas dependências do Departamento de Engenharia Sanitária (ENS) na Universidade.

As determinações de umidade real foram feitas em duplicatas para cada ponto de inspeção, resultando no total de doze amostras por coleta. O procedimento consistiu em coletar as amostras *in situ*, acondicioná-las em sacos plásticos fechados para evitar a perda de umidade por evaporação e levá-las ao laboratório, onde foram maceradas para reduzir sua granulometria e facilitar a secagem. Inicialmente os cadinhos, foram numerados e colocados na estufa a 105°C por trinta minutos para que qualquer sólido ou umidade presente nos mesmos fosse removido. Após serem colocados num dessecador por aproximadamente vinte minutos os cadinhos foram pesados em uma balança de precisão. Então se inicia o procedimento com a turfa. A turfa úmida é colocada nos cadinhos já resfriados, para então esse conjunto ser pesado. Faz-se novamente o processo de secagem na estufa, embora desta vez, as amostras fiquem por vinte e quatro horas na mesma. Após este período, as amostras foram colocadas no dessecador por mais vinte minutos e, por fim, pesadas na balança de precisão. Os valores referentes a umidade foram obtidos através da Equação 5 de sólidos totais e da Equação 6 de umidade real, apresentadas a seguir. Para a determinação da umidade real da turfa foram feitas ao todo 27 análises ao longo de dois anos, desde novembro de 2013 até dezembro de 2016.

$$\text{Sólidos Totais} = \frac{(A-B)}{(C-B)} * 100$$

Equação 5

$$\text{Umidade Real} = 100 - \text{Sólidos Totais}$$

Equação 6

Onde:

A = Peso do cadinho mais a turfa seca;

B = Peso do cadinho;

C = Peso do cadinho mais a turfa úmida.

❖ Taxa de aplicação

A taxa de aplicação do sistema nada mais é que a quantidade de gás introduzida no sistema (em termos de massa) por unidade de material filtrante. Esse parâmetro desempenha um papel fundamental na operação do sistema, já que define os valores críticos de vazão para uma carga de choque (YANG e ALLEN, 1994).

Segundo os estudos de Duan et al. (2006) e Omri et al. (2011), os sistemas de biofiltração são sensíveis a cargas de choque e acabam perdendo eficiência rapidamente, afetando os micro-organismos que fazem a conversão do H_2S em compostos inertes. Para tanto deve-se controlar a quantidade de poluente que entra no sistema através da vazão de gás direcionado a ele. Para Kim, Rene e Park (2008), o biofiltro pode ser sensível às flutuações nas condições de operação, mas pode facilmente recuperar seu desempenho em altas taxas de carga que indicam a estabilidade e atividade dos micro-organismos imobilizados.

A taxa de aplicação do sistema foi calculada multiplicando as médias de concentração de entrada de H_2S e vazão, e por fim dividindo o valor obtido pela área do sistema.

$$TA = \frac{Q \times C_{\text{entrada}}}{A}$$

Equação 7

Onde:

TA = Taxa de aplicação ($mg \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$);Q = Vazão de gás de entrada ($m^3 \cdot h^{-1}$); C_{entrada} = Concentração de H_2S que entra no sistema ($mg \cdot m^{-3}$);A = Área útil do biofiltro (m^2).

4.3 ANÁLISES OLFATOMÉTRICAS

As análises olfatométricas levam em conta a percepção humana do odor. Por isso não fazem uso de aparelhos para mensurar a concentração de gases, e sim do sistema olfativo humano, já que este é o melhor capaz de caracterizar precisamente gases odorantes, mesmo que estes não causem incômodos.

Para as análises de intensidade e caráter odorante, as quais foram feitas na fonte de emissão, foi selecionado um júri móvel de doze trabalhadores da CASAN, os quais ficam expostos ao odor diariamente. Este júri respondeu a questionários que estão disponíveis nos Apêndices A e B deste documento.

Já para a olfatometria dinâmica, o painel de jurados era certificado e realizava a caracterização do odor nas dependências da UFSC com o aparelho Odile-2000, da Odotech Inc., de propriedade do Laboratório de Controle da Qualidade do Ar (LCQAr).

As análises olfatométricas foram norteadas normas ASTM E679-91 e EN137725.

A Tabela 5 apresenta os parâmetros analisados, assim como o método utilizado e o número de amostras analisadas neste trabalho.

Tabela 5 - Análises olfatométricas.

Parâmetro analisado	Método	Número de amostras
Intensidade odorante	Questionário	15
Caráter odorante	Questionário	15
Concentração de odor	Olfatômetro de diluição dinâmica Odotech Inc., modelo Odile-2000	6

❖ Intensidade odorante

Para avaliar a intensidade do odor de uma amostra inalada, o júri deve classificar sua impressão de acordo com o conceito especificado seguindo a escala apresentada pela norma VDI 3882 - Parte I-1992 (Tabela 2). O júri que avalia a intensidade do odor é calibrado com diluições de 1-Butanol ou Piridina, as quais servem de referência para o odor a ser inalado. As diluições de 1-Butanol como composto de

referência para análise de intensidade odorante são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Escala e diluições de 1-Butanol para análise de intensidade odorante.

Nível de Intensidade	Concentração de n-Butanol (g/L)	Intensidade odorante
0	0,00	Não perceptível
1	0,00	Muito fraco
2	0,01	Fraco
3	0,10	Médio
4	1,00	Forte
5	10,00	Muito forte

Fonte: Adaptado de Belli Filho e Melo Lisboa, (1998).

A avaliação olfatométrica da intensidade foi feita através da calibração do júri móvel, composto por trabalhadores da companhia, que foram expostos a diferentes soluções de n-Butanol. Foram preparados cinco frascos com diferentes concentrações da solução padrão diluídas em água destilada. Cada frasco tinha uma intensidade odorante característica devido às diferentes diluições. Os frascos variavam numa escala de não perceptível a muito forte de acordo com a concentração de 1-Butanol, de acordo com a Tabela 6.

Após a exposição dos jurados as soluções de n-Butanol, eles encontraram-se aptos a avaliar a intensidade odorante do gás proveniente da estação elevatória. O júri se deslocou até a fonte para avaliar os pontos de saída (pós- tratamento) e entrada do biofiltro (pré-tratamento).

As respostas dos jurados foram recolhidas em forma de questionário, o qual é apresentado no apêndice A deste trabalho. Este modelo de avaliação segue o procedimento recomendado pela norma americana ASTM E-544-75 (1997). Os questionários foram aplicados com uma frequência quinzenal, durante o ano de 2014, sendo que as análises eram canceladas em dias chuvosos.

❖ Caráter odorante

O caráter odorante é a opinião pessoal do jurado quando o odor faz lembrá-lo de alguma substância, como por exemplo, cheiro de ovo podre, esgoto, óleo queimado, urina, entre outros.

A avaliação deste parâmetro foi feita através da aplicação de um questionário (apêndice B), o qual foi norteado pela norma americana ASTM E-544-75 (1997). Este questionário foi aplicado nos mesmos dias e, portanto, na mesma frequência que o questionário de intensidade.

❖ Olfatometria dinâmica

As amostras foram coletadas através de sistema de enchimento direto de sacos Nalophan® (como mostra a Figura 6) em triplicata e analisadas através do olfatômetro de diluição dinâmica da marca Odotech®, modelo Odile 2000.

O olfatômetro é composto pelas seguintes unidades: software Odile 2000; sistema de compressão e purificação do ar; caixa de pressurização; caixa de diluição; mesa olfatométrica e painel de votação. O equipamento utiliza respostas de seis pessoas (jurados) dispostas numa mesa olfatométrica. O olfatômetro realiza séries de diluições da amostra odorante com ar puro e assim envia para os tubos dispostos no painel de votação de cada jurado. Os jurados tinham 15 segundos para cheirar o ar em três tubos e apontar através de um botão o tubo no qual sentiam o odor, sendo que em apenas um dos três tubos havia odor da amostra.

As respostas do corpo de jurados eram tratadas por um software, onde eram simultaneamente tratadas através das normas que regem a olfatometria dinâmica, ASTM E679-91 e EN137725. Ao fim das análises, o aparelho fornecia a concentração de odor da amostra em unidades de odor por metro cúbico (U.O/m³). O esquema de operação do olfatômetro Odile-2000 é apresentado no Anexo A.

As amostras foram coletadas no pré-tratamento e pós-tratamento e então eram analisadas pelos jurados no olfatômetro como pode ser observado na Figura 7.

Ao todo foram feitas seis análises com o olfatômetro, Odile-2000, sendo que três análises foram feitas entre setembro e outubro de 2014 e três em dezembro de 2016.

Figura 6 - Enchimento dos sacos.



Fonte: Autor.

Figura 7 - Análise com olfatômetro Odile - 2000.



Fonte: Autor.

4.4 IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA ATRAVÉS DO USO DE TÉCNICAS MOLECULARES

4.4.1 Análises moleculares

Os procedimentos de análise foram realizados no laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA), nas instalações da Universidade Federal de Santa Catarina.

Para a análise da comunidade microbiana foram adotadas as seguintes técnicas de biologia molecular:

- PCR (*Polymerase chain reaction*);
- DGGE (*Denaturing gradient gel electrophoresis*);
- Sequenciamento Sanger.

As amostras foram coletadas no ano de 2015 nas estações inverno e verão, já que nestas condições climáticas tem-se maior chance de obter uma variação do material genético devido à diferença de temperatura. Entretanto, deve-se ressaltar que a diferença de temperatura entre as estações não gera perda de eficiência no sistema. Além da diferença sazonal, as amostras foram coletadas em duas faces do biofilme (Norte e Sul), pois a face Norte recebe maior incidência solar que a face Sul e por isso poderia haver uma diferenciação na comunidade bacteriana. Em cada face do biofilme foram feitas coletas com diferentes profundidades do meio filtrante, superior (0,15m de profundidade) e inferior (0,75 m de profundidade). O resumo das amostras referentes às análises da comunidade bacteriana está apresentado na Tabela 7. No total foram coletadas oito amostras, duas em cada profundidade, nas estações verão e inverno.

Tabela 7 - Amostras de material filtrante para análise da comunidade bacteriana.

Estação do ano	Profundidade	Incidência Solar	Número de Amostras
Verão	Superior (0,15m)	Face Norte	2
		Face Sul	
	Inferior (0,75m)	Face Norte	2
		Face Sul	
Inverno	Superior (0,15m)	Face Norte	2
		Face Sul	
	Inferior (0,75m)	Face Norte	2
		Face Sul	

Fonte: Autor.

❖ PCR - Polymerase chain reaction

As etapas seguidas para que esse procedimento fosse realizado foram:

- 1ª - Extração do DNA genômico;

- 2ª - Reação em cadeia da polimerase (PCR);
 3ª - Verificação do DNA amplificado em gel de agarose.

O DNA genômico foi extraído utilizando o Kit de extração *Power soil tm DNA isolation kit* (MOBIO® Laboratórios) de acordo com o protocolo do fabricante.

Após a extração do DNA, o material foi armazenado à -24°C até o momento de sua utilização. A qualidade do DNA extraído foi verificada em gel de agarose 1,5% e, posteriormente a sua verificação, o DNA foi quantificado pelo equipamento QUBIT® Invitrogen. Depois da dosagem, o DNA foi submetido a diluições a fim de garantir que cada amostra contivesse 5 ng/μL.

Feito a extração, dosagem e diluição, o DNA foi então submetido à amplificação por PCR, utilizando iniciadores específicos para DDGE — procedimento complementar necessário para obtenção dos fragmentos do 16S.

A técnica de PCR foi realizada fazendo-se uso dos iniciadores R1401 (5'-GCG TGT GTA CAA GAC CC-3') e F968 (5'-GC-Clamp [CGC CCG GGG CGC GCC CCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG G]-AAC GCG AAG AAC CTT AC-3'), abrangendo a região aproximada entre os nucleotídeos 968 e 1401 do gene 16S rRNA, que inclui as regiões variáveis V6-V8, e dos reagentes e concentrações descritos na Tabela 8 (TechnicalBulletin, Sigma-Aldrich®, D4545).

Tabela 8 - Reagentes utilizados na PCR.

Reagentes	Concentração final	Unidade
Buffer 10x		1x
Cloreto de Magnésio 25 mM	2,50	mM
dNTPs 10 mM	0,20	mM
Iniciadores 20 μM	0,40	μM
Taq Polimerase 5 U/μL	0,05	U/μL
DNA molde	200,00	pg/μL
Água ultrapura	≤ 50,00	μl

Fonte: Autor.

A análise dos produtos de PCR foi realizada por eletroforese em gel de agarose (2% p/v agarose) contendo gel red (10 μL para 100 mL de agarose), fazendo uso de 4 μL de corante (azul de bromofenol,

xilenocianol, glicerol e água) e 4 µL de produto de PCR, em tampão 1X TBE (Tris-borato-EDTA, pH 8,3). A corrida foi realizada a 60 V por 35 minutos, e a 100 V por 90 minutos. A visualização foi conduzida sob luz ultravioleta (UV) em um transiluminador e registrada através de um sistema de captura de imagens (LPixImageSTi). Um esquema representativo da técnica de PCR encontra-se no Anexo B.

Após amplificação, o produto da PCR foi conservado a 4°C até o momento de sua utilização na etapa subsequente de separação dos segmentos amplificados na PCR usando Eletroforese em gel de gradiente desnaturante.

❖ DGGE - Denaturing gradient gel electrophoresis

Na análise de eletroforese em gel de gradiente desnaturante, fragmentos de DNA com o mesmo comprimento, mas com sequências diferentes, podem ser separados. A separação baseia-se na diminuição da mobilidade eletroforética de uma molécula de DNA de cadeia dupla, parcialmente derretida em gel de poliacrilamida contendo um gradiente linear desnaturante de DNA (uma mistura de ureia e formamida). Moléculas de DNA com sequências diferentes param a migração em posições diferentes devido ao gradiente de desnaturação quando atingem a temperatura de desnaturação (LUXMY; NAKAJIMA; YAMAMOTO, 2000).

Após a PCR, as amostras, então, foram depositadas no gel DGGE com concentração de 6% de agarose e diferentes gradientes de concentrações desnaturantes de formamida e ureia. Posteriormente, foram submetidas à migração eletroforese com tampão TAE 50X (Tris-Acetato-EDTA).

Durante a migração, os fragmentos de DNA em condição desnaturante cada vez maior entram em um processo de desnaturação das bandas compostas de bases A-T (Adenina e Timina) e G-C (Guanina e Citosina). O gradiente utilizado foi de 15 e 55%, sendo previamente preparadas as soluções estoque de 0% e 100% (0% = Acrilamida 40%, TAE 50X e H₂O ultrapura; 100% = Acrilamida 40%, TAE 50X, ureia, formamida).

Cada solução desnaturante recebeu 100 µl de Persulfato de amônio 10% (APS) e 10 µl de Tetrametiletilenodiamina (TEMED). Após a solidificação do gel (aproximadamente 1h), as placas foram transferidas para cuba específica deste procedimento. Nessa cuba foram adicionados 7 L compostos por 70 ml de TAE 50X e 6930 ml de água destilada.

As características de corrida foram as seguintes: temperatura de corrida do gel foi constante: 60°C; voltagem de 200 V e duração de 5h25 min.

Após o término da corrida, o gel foi retirado da cuba e imerso para coloração por 30 minutos em solução de Gel Red (10,000 x 0,5 mL concentrado ID: 41003. Uniscience®) em tampão TAE 50X.

Seguida a coloração, as aquisições das imagens dos géis foram feitas em aparelho Fotodocumentador L-PIX STimage (Loccus Biotecnologia®). Os perfis das amplificações foram analisados com o programa GelCompar II versão 6.5 (BioSystematica®, Wales, UK).

O Anexo C representa as etapas do procedimento da Eletroforese em gel de gradiente desnaturante.

A fim de aprofundar o conhecimento sobre as espécies detectadas pelos géis, o DNA de interesse contido em cada banda obtida foi recolhido com o auxílio de uma micropipeta estéril. O conteúdo recolhido foi diluído em 50 µL de água ultrapura para ser utilizado como molde no produto de PCR, que foi purificado para ser usado nas análises de sequenciamento Sanger.

Para o sequenciamento Sanger do DNA das bandas separadas por DGGE foi utilizada a técnica de PCR nas mesmas condições citadas anteriormente. Em relação ao Sequenciamento dos fragmentos reamplificados do DNA, este foi realizado via serviço terceirizado pela empresa Ludwig-Biotec (<https://ludwigbiotec.com.br/loja/>).

❖ Sequenciamento Sanger

O sequenciamento Sanger teve por objetivo identificar os grupos ou gêneros bacterianos das bandas extraídas do gel DGGE.

O sequenciamento foi feito com os fragmentos reamplificados do DNA, o material extraído na DGGE foi analisado pela empresa Ludwig-Biotec.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

❖ Parâmetros físico-químicos

Para a análise estatística dos dados físico-químicos nesse trabalho foi adotado o coeficiente de Spearman, pois os dados coletados não apresentavam distribuição Gaussiana. A classificação de r_s com base nos intervalos é apresentada na Tabela 9. O intervalo varia de 0 a 1 e pode

ser positivo ou negativo. Quando a correlação é positiva as duas variáveis variam juntas, positivamente ou negativamente. O oposto é a variação negativa, ou seja, enquanto uma variável varia positivamente a outra varia negativamente.

Tabela 9 - Correlação de significância através dos intervalos de r_s .

Intervalo de r_s	Significância
0,00 - 0,20	Correlação nula
0,21 - 0,40	Correlação fraca
0,41 - 0,70	Correlação substancial
0,71 - 0,90	Correlação forte
0,91 - 1,00	Correlação extremamente forte

❖ Parâmetros microbiológicos

As estruturas da comunidade bacteriana das amostras foram analisadas estatisticamente com o programa GelCompar II versão 6.5 (BioSystematica, Wales, UK) a partir da análise de agrupamento hierárquico, utilizando índice de Jaccard, e o modelo de agrupamento por UPGMA.

Para o teste estatístico de similaridade foi utilizada a ferramenta estatística Escalonamento Multidimensional não - Métrico (*non-Metric multidimensional scaling* - nMDS). Uma técnica de ordenação que tem por objetivo descrever a estrutura de uma matriz complexa. O princípio desta técnica é construir uma matriz de distâncias entre os sítios amostrais usando informações das espécies em cada sítio. Algumas dessas distâncias levam em consideração a composição das amostras, como, por exemplo, lista de espécies, dados de presença e ausência das espécies nas amostras, entre outras. Assim, calcula-se a distância entre todos os pares possíveis de amostras, uma vez calculadas elas são arranjadas numa matriz.

O resultado do nMDS é um diagrama de dispersão que melhor reflete a matriz. Quando duas amostras possuem um baixo valor de distância, elas ficam posicionadas em locais próximos uma da outra. A interpretação dos resultados consiste em verificar a semelhança entre as amostras, indicada pela proximidade espacial ao longo dos eixos de ordenação (bi ou tridimensional) (MELLO; HEPP, 2008).

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os dados físico-químicos analisados foram: concentração de H₂S nos pontos de entrada e saída, umidade nos painéis esquerdo (UE) e direito (UD) e temperatura, também nos painéis esquerdo (TE) e direito (TD), vazão de gás de entrada no sistema de biofiltração e eficiência de remoção do sulfeto de hidrogênio. Abaixo é apresentada a Tabela 10 com a estatística descritiva desses dados feita no programa STATISTICA 7.0.

Tabela 10 - Estatística descritiva dos dados.

	Unidade	N	Média	σ
Concentração de Entrada	mg.m ⁻³	803	2,43	± 3,139
Concentração de Saída	mg.m ⁻³	803	0,01	± 0,074
Eficiência	%	803	0,99	± 0,012
TE	°C	803	22,26	± 3,317
TD	°C	803	22,65	± 3,359
UE	%	803	25,10	± 6,528
UD	%	803	27,42	± 4,937
Vazão	m ³ .h ⁻¹	88	952,80	± 150,341

Legenda: TE= temperatura sensor esquerdo; TD= temperatura sensor direito; UE= umidade sensor esquerdo; UD= umidade sensor direito.

Na Tabela 10 é possível observar que ao longo do período de monitoramento do sistema, foram validadas 803 amostras físico-químicas, com exceção da vazão, a qual possui 88 amostras.

A análise de estatística descritiva dos dados mostra o valor médio da concentração de saída do sulfeto de hidrogênio foi 0,01 ppm. Este valor é baixo, quando comparado ao valor médio de entrada, indicando que o sistema é eficiente, fato observado nos valores médios de eficiência obtidos nessa análise (eficiência média = 99,0%).

Em relação à temperatura, houve uma pequena diferença de 0,4°C entre os painéis, esquerdo e direito. O mesmo ocorreu em relação à umidade do sistema. Essas variações podem ocorrer pela diferença de incidência solar entre as faces Norte e Sul do biofiltro, pelo entupimento de algum aspersor de água, diferenciando a quantidade de irrigação recebida em cada parte do biofiltro ou ainda pela atividade microbiana ser maior em algum ponto, resultando na diferença de temperatura dos sensores.

O coeficiente de correlação de Spearman (r_s) foi utilizado para analisar a dependência entre duas variáveis físico-químicas. O resultado está apresentado na Tabela 11, o nível de significância adotado foi 95%.

Na Tabela 11 pode-se observar que as variáveis eficiência e entrada tem correlação nula ($r_s = 0,11$), ou seja, a concentração de entrada do sulfeto de hidrogênio não afeta a eficiência do sistema em nenhum momento, e portanto, não afeta a microbiota existente na camada filtrante.

A variável vazão também teve relação fraca com a eficiência. Esse resultado indica que a vazão de gás que entrou no biofiltro não afetou seu funcionamento, e por fim, não afetou a microbiota.

Os parâmetros umidade e temperatura não afetaram a eficiência do sistema, esse resultado é observado nos valores do coeficiente de correlação de Spearman que ficaram na faixa de correlação fraca.

A partir dos resultados expostos, pode-se afirmar que nas condições operacionais estudadas nesse trabalho, os parâmetros umidade, temperatura, vazão e concentração de entrada não afetaram a eficiência do sistema de biofiltração.

Tabela 11 - Coeficiente de correlação de Spearman (r_s).

	Entrada	Saída	Eficiência	TE	TD	UE	UD	Vazão
Entrada	1,00	0,25	0,11	0,19	0,14	-0,20	-0,21	0,00
Saída		1,00	-0,86	0,01	0,02	-0,04	-0,06	0,02
Eficiência			1,00	0,08	0,05	-0,03	-0,01	-0,05
TE				1,00	0,96	0,20	0,22	-0,30
TD					1,00	0,27	0,29	-0,30
UE						1,00	0,94	-0,30
UD							1,00	-0,31
Vazão								1,00

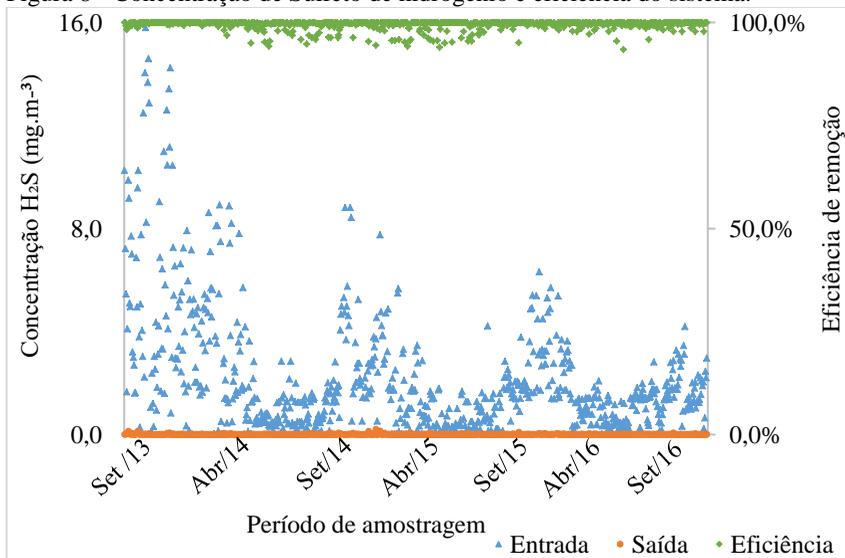
Legenda: Entrada= Concentração de H₂S na entrada do sistema; Saída= Concentração de H₂S na saída do sistema; TE= temperatura sensor esquerdo; TD= temperatura sensor direito; UE= umidade sensor esquerdo; UD= umidade sensor direito.

5.1.1 Concentração de H₂S

A eficiência do sistema foi mensurada através da comparação das médias de concentrações entre os pontos de pré-tratamento (E1, E2 e tubulação de sucção) e os valores obtidos na saída do tratamento (chaminé). Como o gás sulfídrico é a substância mais expressiva produzida no processo de digestão anaeróbia da matéria orgânica presente no esgoto sanitário, este pode ser utilizado para mensurar a eficiência do sistema de tratamento de odores.

A Figura 8 apresenta a eficiência do biofiltro em relação às concentrações de sulfeto de hidrogênio (mg.m⁻³) de entrada e saída medidas com o aparelho Jerome® 631-X.

Figura 8 - Concentração de Sulfeto de hidrogênio e eficiência do sistema.



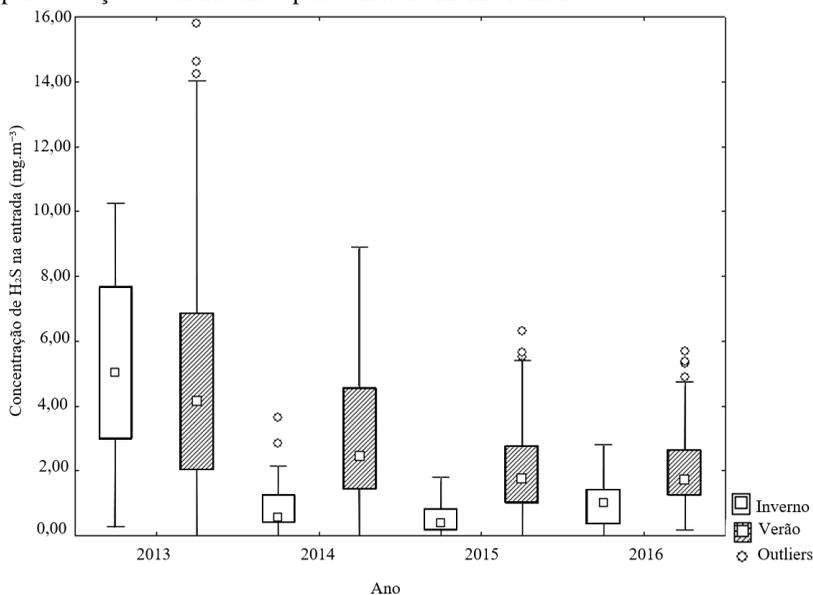
A Figura 8 apresentada acima mostra uma tendência nas concentrações de sulfeto de hidrogênio no ponto de entrada. Essa tendência destaca-se pela presença de três picos onde se agrupam as maiores concentrações de H₂S mensuradas. Esses três picos ocorrem durante os meses mais quentes do ano, indicando que a produção de sulfeto de hidrogênio, tanto nas tubulações de coleta e transporte, como nas estações elevatórias, é favorecida com o aumento da temperatura.

Entretanto, mesmo com a concentração de H_2S sendo maior nos meses mais quentes, fica evidente que o sistema de biofiltração manteve sua eficiência de tratamento, a qual esteve sempre acima de 98%, assim como mostrou o teste de correlação. Os biofiltros estudados por Duan et al. (2006) e Omri et al. (2011), mostraram que os sistemas de biofiltração são sensíveis a cargas de choque e acabam perdendo eficiência rapidamente, afetando os micro-organismos que fazem a conversão do H_2S em compostos inertes.

Na Figura 8 é possível observar que a eficiência do sistema se mantém alta, com pequenas flutuações, a uma taxa de aplicação de $2,31 \text{ mg.m}^{-2}$ de biofiltro, durante todo o período de monitoramento.

Nas Figuras 9, 10 e 11 apresentadas abaixo, são possíveis observar, com maior detalhamento, as concentrações de sulfeto de hidrogênio na Entrada e Saída do sistema de biofiltração, e também a eficiência do mesmo.

Figura 9 - *Boxplot* das concentrações de H_2S na entrada do sistema agrupadas pelas estações e distribuídas pelos anos de monitoramento.



Na Figura 9 constata-se que o ano de 2013 teve a maior variação nas concentrações de sulfeto de hidrogênio, com o maior valor de mediana entre os anos. Nos anos subsequentes, as medianas das

concentrações de entrada mantiveram-se abaixo de $2,0 \text{ mg.m}^{-3}$, e a variação das concentrações foi diminuindo com o passar dos anos, sendo a menor variação no ano de 2016. As concentrações do sulfeto de hidrogênio na entrada do sistema diminuíram ao longo dos anos devido ao melhoramento do sistema de bombas da estação elevatória. A partir desse melhoramento o esgoto não ficou mais retido por tanto tempo na estação, o que acabou reduzindo a quantidade de H_2S produzido pela degradação da matéria orgânica.

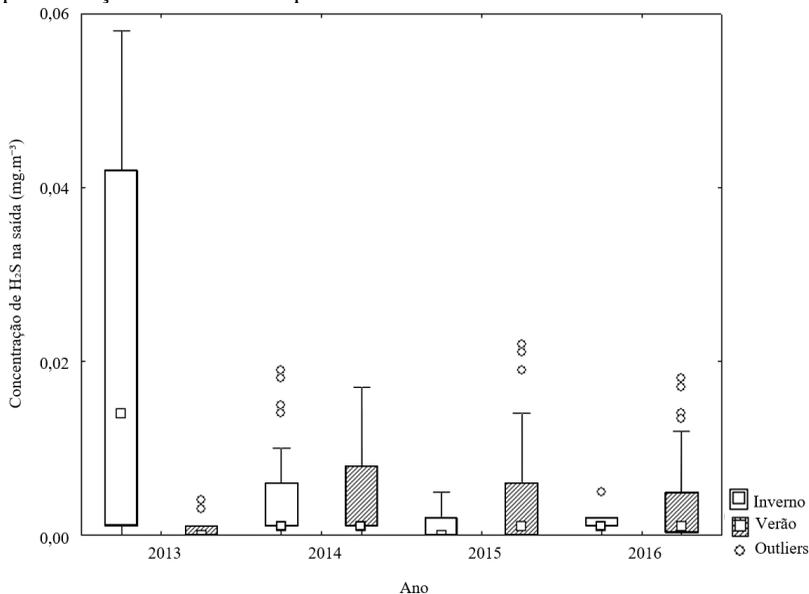
A concentração de entrada de sulfeto de hidrogênio variou, durante todo o período de monitoramento de $8,0 \times 10^{-3}$ a $15,8 \text{ mg.m}^{-3}$. Esses valores são baixos quando comparados a outro sistema de biofiltração em escala real, como o estudado por Omri et al. (2011), onde as concentrações de H_2S variavam de 227,2 a $1136,0 \text{ mg.m}^{-3}$. Apesar de ser uma estação elevatória de grande porte, a concentração de sulfeto de hidrogênio era baixa talvez pelo sistema de exaustão ser eficiente e não deixar acumular H_2S dentro da estação, porém, ainda assim, esses valores de concentração são incômodos aos trabalhadores e moradores da região.

A Figura 9 deixa apresenta detalhadamente as tendências que apareceram na Figura 8, que as concentrações de H_2S na entrada do sistema na estação inverno eram bem menores que as concentrações de H_2S na estação verão. Esse resultado indica que na estação verão há uma maior produção do H_2S favorecida pela temperatura ou pela quantidade de esgoto ser maior ou por ambas as hipóteses.

A Figura 10 apresenta um gráfico *Boxplot* com as concentrações de sulfeto de hidrogênio após o tratamento. Observa-se a mesma tendência que existe na Figura 9, no ano de 2013 as concentrações de saída eram maiores que nos anos seguintes devido a concentração de entrada desse ano ser maior.

Na Figura 10 fica evidente que o sistema mantinha-se eficiente, apesar das concentrações de entrada na estação verão (Figura 9) serem altas, a concentração de saída para a mesma estação não foi afetada. Isso indica que os micro-organismos presentes no sistema conseguiram eram adaptáveis a essas flutuações de concentração de sulfeto de hidrogênio.

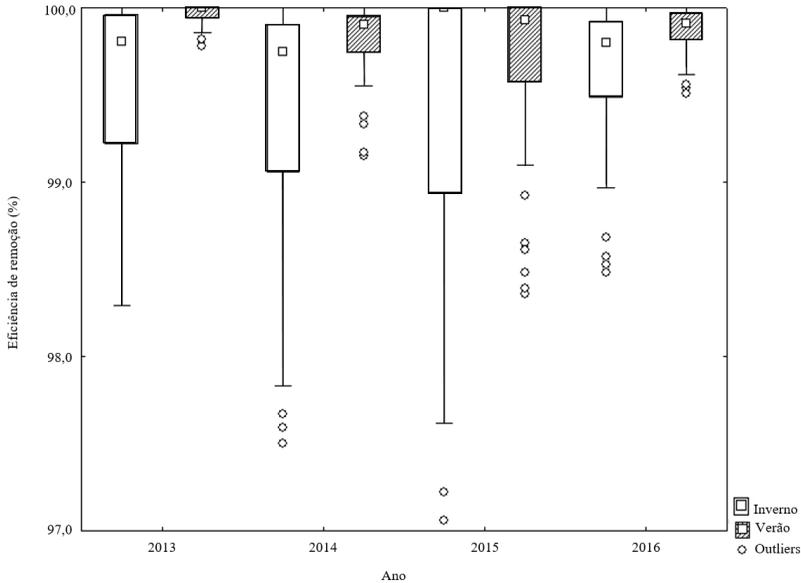
Figura 10 - *Boxplot* das concentrações de H₂S na saída do sistema agrupadas pelas estações e distribuídas pelos anos de monitoramento.



As eficiências de remoção do sulfeto de hidrogênio são apresentadas na Figura 11. Ao longo dos anos de monitoramento a eficiência teve um aumento na sua amplitude, entretanto, as médias anuais permaneceram próximas entre si e próximas de 100%. A proximidade de 100% de eficiência de remoção de sulfeto de hidrogênio pode ser observada ao longo do tempo na Figura 8.

Na Figura 11 é possível observar que a eficiência do ano de 2013 foi maior que dos anos subsequentes, apesar das concentrações de entrada de sulfeto de hidrogênio ser maiores que dos outros anos. O ano de 2013 foi ano de início de operações do reator, ou seja, o leito filtrante era novo e pode absorver as concentrações de H₂S sem afetar a eficiência do sistema.

Figura 11 - *Boxplot* das eficiências de remoção de H₂S distribuídas pelos anos de monitoramento.



Nos estudos de Yang e Allen (1994), o sistema de biofiltração em escala de laboratório teve concentrações de entrada de H₂S que variaram de 7,0 a 3000,0 mg.m⁻³. Para essa amplitude de concentração o sistema de biofiltração atingiu eficiências de 99%. O estudo de Yang e Allen (1994) mostra que os biofiltros conseguem tratar altas concentrações de sulfeto de hidrogênio, mas deve-se controlar as cargas de choque, controlando a vazão para que o sistema não entre em colapso, ou seja, vazões menores quando a concentração é maior, e vazões maiores quando a concentração é menor.

Já o estudo de Alfonsín et al. (2015), o biofiltro, em escala de bancada, teve concentrações de entrada de sulfeto de hidrogênio da ordem de 3,43 mg.m⁻³ e a eficiência de remoção atingida foi de 94,23%. Para Chouari et al. (2015) a eficiência de remoção do H₂S variou de 90 a 99%. Já nos estudos de Omri et al. (2011), com um sistema também instalado em uma estação de tratamento de esgoto visando tratar o H₂S, as eficiências ao longo dos 150 dias de operação contínuos, ficaram acima de 99%.

Diferentes sistemas de biofiltração, com parâmetros e materiais filtrantes de diferentes origens atingiram eficiências acima de 90%, isso

mostra que os biofiltros para o tratamento de sulfeto de hidrogênio tem alta aplicabilidade para esse poluente, seja em sistemas com grandes ou pequenas concentrações de H_2S , desde que a vazão de gás seja controlada.

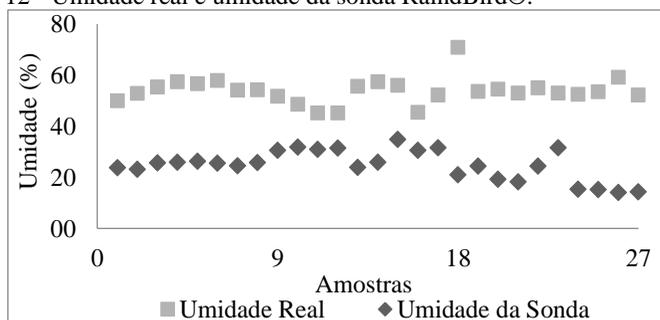
5.1.2 Umidade da turfa

A umidade da turfa era controlada pela sonda Rainbird® por dois sensores, um instalado na face Norte do biofiltro e outro na face Sul.

Após a instalação do biofiltro observou-se que a sonda controladora de umidade (Rainbird®) tinha um padrão de medição diferente da umidade real e, deixava a umidade da turfa abaixo do esperado, entre 20% e 40%, sendo que a literatura sugere entre 40% e 60%. Para acertar a umidade, foram feitas análises laboratoriais de umidade com a turfa, após os resultados, observou-se que a umidade real da turfa estava dentro da literatura, apesar de estar numericamente menor nos painéis dos sensores. A Figura 12 apresenta o gráfico com os valores obtidos na análise de umidade real e na sonda, nos mesmos dias.

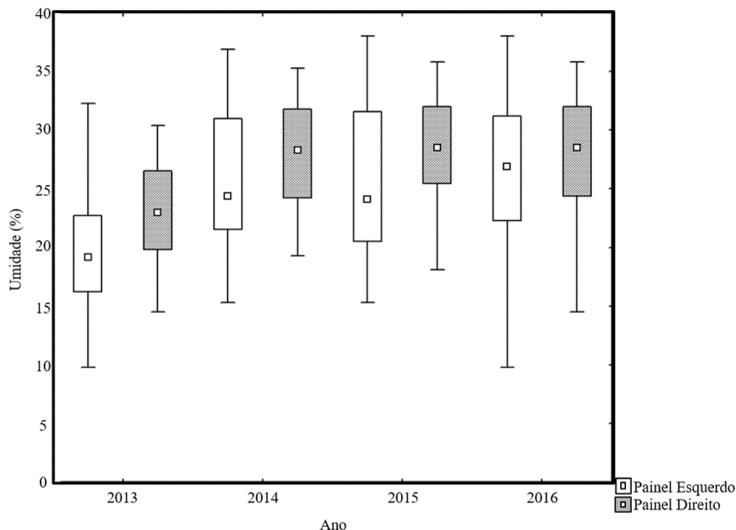
Pode-se observar na Figura 12 que a umidade real ficou, acima da umidade da sonda, o valor médio de diferença entre as umidades real e sonda foram de 25%. Como a sonda RainBird® não tinha como ser calibrada, a umidade nos sensores ficou sempre abaixo do valor de literatura, isso pode ser observado no gráfico de umidade ao longo do período de monitoramento (Figura 13).

Figura 12 - Umidade real e umidade da sonda RainBird®.



A Figura 13 apresenta um gráfico *boxplot* com os valores de umidade para cada painel referente a um sensor, painel esquerdo e sensor face Norte, painel direito e sensor face Sul.

Figura 13 – *Boxplot* da umidade dos painéis esquerdo e direito ao longo dos anos.



A Figura 13 apresenta as variações na umidade para todos os anos de monitoramento. Fica evidente que os valores médios ficaram entre 18% e 28% pela umidade lida na sonda, com a variação de 25% para umidade real, os valores médios seriam de 43% e 53%. Além disso, entre os sensores, esquerdo e direito, em cada ano, é possível observar que o sensor direito tem menor variação de umidade. Essa diferença pode ser explicada pela incidência solar ser menor na face Sul, onde o sensor direito foi instalado, assim a água da irrigação evaporava menos nessa face, deixando esse lado do sistema mais úmido.

A umidade do sistema está intimamente ligada à comunidade bacteriana do meio, e por consequência, à eficiência de remoção do sulfeto de hidrogênio, já que a umidade correta é um dos parâmetros que proporciona um ambiente favorável à manutenção dos micro-organismos. O sistema teve uma eficiência próxima de 100% na maior parte do tempo de operação, como pode ser visto na Figura 8, essa alta eficiência pode ser atrelada aos valores de umidade adotados. Se os valores de umidade não fossem favoráveis aos micro-organismos o sistema entraria em colapso e a remoção do H_2S seria prejudicada.

Nos estudos de Gaudin, Andres e Le Cloirec (2008), o biofiltro em escala de laboratório, com novo material filtrante composto de carbonato de cálcio e aglutinante orgânico com duas fontes de

nitrogênio, operou em uma faixa de umidade de 47% a 69%, esses valores de umidade são compatíveis com meios orgânicos, como turfa. Nos estudos de Omri et al. (2011), com um biofiltro em escala real para tratar sulfeto de hidrogênio, utilizando o mesmo material filtrante, a turfa, o teor de umidade variou entre 30% e 80%.

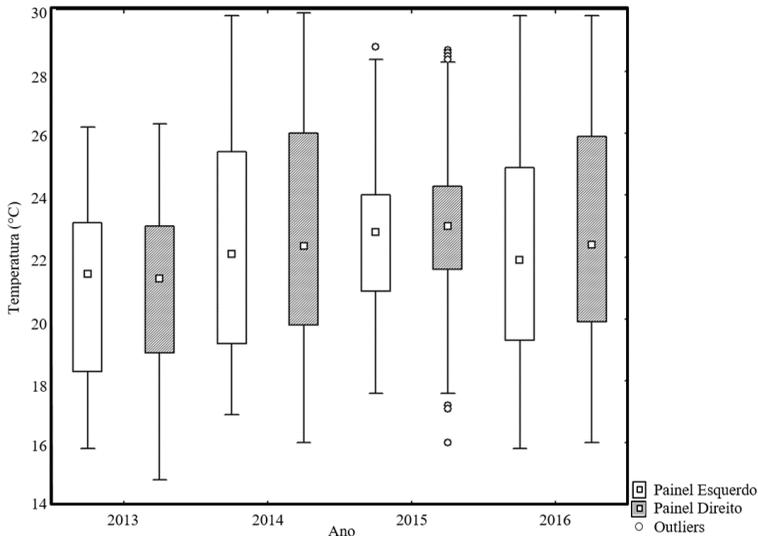
5.1.3 Temperatura

O sistema de biofiltração foi operado em temperatura ambiente durante todo o monitoramento. Como o biofiltro está instalado na região sul do Brasil, ou seja, o ano tem estações de verão e inverno bem definidas. A Figura 14 apresenta as temperaturas obtidas durante os anos de monitoramento para cada sensor.

Na Figura 14 é possível observar que ao longo dos anos a temperatura no biofiltro variou entre 14°C e 30°C, sendo que o ano com menor temperatura foi 2013 e o ano que atingiu a maior temperatura foi 2014. A temperatura média dos sensores variou entre 21°C e 23°C, valores típicos para região de Florianópolis, onde o biofiltro está instalado. No gráfico, também é possível perceber que no ano de 2015 a temperatura teve menor variação, fato que pode ter influenciado na comunidade bacteriana do meio.

O biofiltro operou em temperaturas mesofílicas, essa faixa de temperatura favorece os micro-organismos responsáveis pela degradação do sulfeto de hidrogênio. Como os micro-organismos foram favorecidos pela faixa de temperatura, assim como pela umidade do sistema (Figura 13), a eficiência de remoção do H₂S (Figura 8) manteve-se próxima de 100% durante a maior parte do período de monitoramento, indicando a estabilidade do sistema, mesmo após um longo período de operação.

Figura 14 - *Boxplot* temperatura dos painéis esquerdo e direito durante os anos de monitoramento.



Nos estudos de Chouari et al. (2015), o sistema de biofiltração, com concentrações de sulfeto de hidrogênio maiores que 500 ppm obteve resultados ótimos em termos de eficiência, operava em temperatura ambiente de 30°C.

Ainda de acordo com o estudo, a faixa de temperatura do biofiltro é a mesma encontrada nesse trabalho, sendo considerada mesofílica. Segundo a literatura essa é a faixa de temperatura ideal para a operação de sistemas de biofiltração, pois em temperaturas abaixo dessa faixa por um longo período os micro-organismos podem entrar em estado de latência e em temperaturas acima os micro-organismos podem se desnaturar, fazendo com que o sistema tenha uma severa perda de eficiência.

5.2 ANÁLISES OLFATOMÉTRICAS

5.2.1 Olfatometria dinâmica

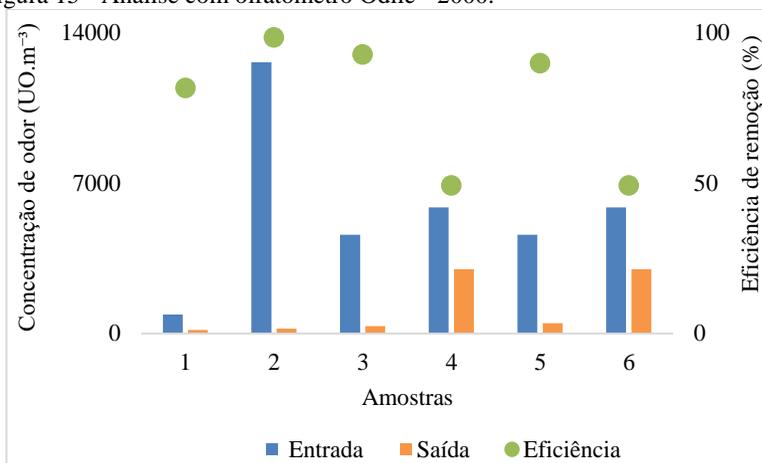
As análises com o olfatômetro Odile-2000 foram realizadas nas dependências do LCQAr. Em média, tiveram-se cinco jurados por análise, cada análise foi realizada em triplicata e a média dos resultados obtidos é o resultado final da análise.

Foram coletados três sacos de amostras no pré e no pós-tratamento. As amostras foram mantidas em sacos escuros para que os compostos não se degradassem com a luz e encaminhadas ao laboratório para análise, as quais eram feitas logo após a coleta.

Ao todo foram realizadas seis análises, a Figura 15 apresenta os resultados obtidos nas seis amostragens realizadas.

Pode-se observar na Figura 15 que o biofiltro teve uma variação nos valores de concentração de odor na entrada do sistema, sendo o valor mínimo de 875 UO.m^{-3} na amostra 1 e o valor máximo foi 12614 UO.m^{-3} na amostra 2. Além da variação nas concentrações, pode-se observar uma variação na eficiência do sistema, já que duas amostras (amostras 4 e 6) tiveram eficiências de apenas 49%.

Figura 15 - Análise com olfatometro Odile - 2000.



Os dados obtidos nessa análise podem ser relacionados com a concentração de sulfeto de hidrogênio mensurada com o aparelho Jerome® 631-X. Nos dias referentes às análises 4 e 6, a concentração do H_2S na entrada do sistema foi de $0,65 \text{ mg.m}^{-3}$ e $0,23 \text{ mg.m}^{-3}$, e as de saída $0,05 \text{ mg.m}^{-3}$ e $0,06 \text{ mg.m}^{-3}$, respectivamente.

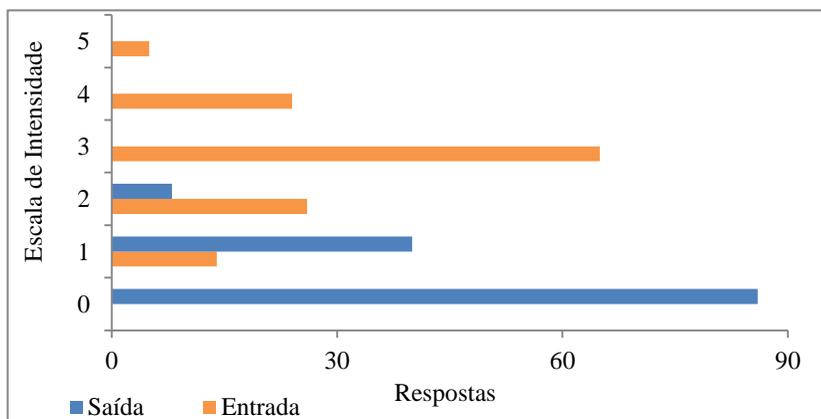
Pode-se afirmar que o sistema era eficiente observando apenas a Figura 15, pois há uma alteração de caráter do odor na olfatométrica dinâmica, o que pode ter mascarado a eficiência do sistema principalmente nas amostras 4 e 6. Quando se correlaciona o resultado da olfatométrica dinâmica com o resultado obtido com o Jerome 631-X (Figura 8), consegue-se observar que o sistema era eficiente, do ponto

de vista químico, com a redução do odor gerado pelo sulfeto de hidrogênio atestado pelo sistema olfativo humano, mas também do ponto de vista físico, com a redução da concentração do H_2S mensurada pelo aparelho Jerome® 631-X.

5.2.2 Intensidade e caráter odorante por questionamento

A intensidade odorante é a força com que um odor é sentido pelo olfato humano. Nesse estudo, o composto utilizado como referência para calibração do júri foi o 1-Butanol. A Figura 16 apresenta o gráfico de intensidade odorante.

Figura 16 - Gráfico de intensidade odorante.



A Figura 16 apresenta o total de respostas do júri móvel ao questionário apresentado no Apêndice A desse trabalho. Ao todo foram coletadas 134 respostas que caracterizavam o odor de acordo com a sua intensidade. A escala de referência foi apresentada na Tabela 6 e varia entre não perceptível, muito fraco, fraco, moderado, forte e muito forte, o grau de intensidade corresponde aos números de 0 a 5 respectivamente.

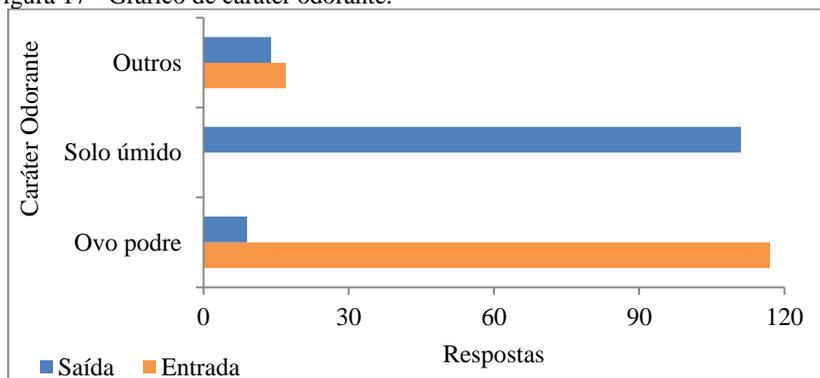
Fica evidente que o odor sentido na entrada do sistema é categorizado, em sua maioria, como fraco, moderado e forte. Já o odor sentido na saída do sistema de biofiltração, foi categorizado em 86 respostas como não perceptível.

De acordo com a Figura 16 pode-se afirmar que o odor teve alteração de intensidade após o tratamento de biofiltração, tornando-se ameno ao olfato humano.

Além da intensidade, também foi analisado o caráter odorante. O caráter odorante é a substância que o cérebro relaciona com o odor sentido. O gráfico de caráter odorante é apresentado na Figura 17.

O questionário de caráter odorante está apresentado no Apêndice B desse trabalho. Ao longo de todas as campanhas foram coletadas 134 respostas.

Figura 17 - Gráfico de caráter odorante.



Na Figura 17 é possível observar a diferença entre as respostas assinaladas na entrada e saída do sistema de biofiltração. Na entrada do sistema, das 134 respostas obtidas, 117 caracterizaram o odor como ovo podre e apenas 17 respostas classificaram como outros. Já na saída do sistema, o odor foi classificado como solo úmido, na maioria das respostas, 111 no total.

Após a construção dos gráficos 16 e 17, é evidente que a intensidade e o caráter odorante são características fundamentais na caracterização do odor. Nesse estudo o caráter odorante remete a uma substância fétida na entrada do sistema e na saída como uma substância agradável de ser inalada. Analisando os dois gráficos é possível observar que o sistema alterou a intensidade e o caráter do odor, de forma a melhorar a qualidade do ar da região.

Ao correlacionar as Figuras 16 e 17, de intensidade e caráter odorante, respectivamente, com o gráfico do olfatômetro Odile-2000 (Figura 15) e com o gráfico de concentração e eficiência do sistema de

biofiltração (Figura 8) se pode observar que todos eles convergem para o mesmo ponto, que o sistema é eficiente.

Do ponto de vista da remoção de odor, o qual era sentido diariamente pelos funcionários da concessionária de saneamento e pela população adjacente, e que após a implantação do sistema de biofiltração a percepção do odor pela população era praticamente nula, pois a baixa concentração de sulfeto de hidrogênio que resistia ao tratamento era facilmente dispersada no ar, tornando-se imperceptível ao olfato humano nas redondezas do sistema.

5.3 ANÁLISES MOLECULARES

5.3.1 PCR (*Polymerase chain reaction*) e DGGE (*Denaturing gradient gel electrophoresis*)

A análise do perfil da estrutura da comunidade bacteriana e das espécies presentes nas amostras coletadas no biofiltro foi realizada através do procedimento PCR – DGGE – Sequenciamento Sanger.

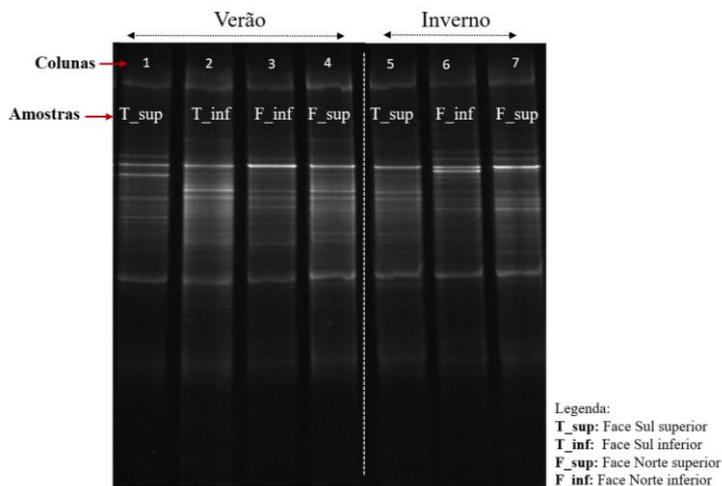
As amostras foram coletadas seguindo as variáveis:

- a) Espacial: Face Norte (F) e Face Sul (T);
Superior (S) e Inferior (I);
- b) Sazonal: verão e inverno.

O padrão das bandas do gel de DGGE encontrado na análise do sistema de biofiltração, nas variáveis supracitadas, está exposto na Figura 18 a seguir. Cabe ressaltar que cada banda corresponde a um grupo bacteriano dominante na amostra, sendo que, quanto mais bandas houver, maior será a diversidade, assim como quanto mais intensa for a banda, maior será a abundância do grupo na amostra.

É possível observar claramente uma distribuição diferenciada das bandas nas amostras analisadas, o que corresponde a variação bacteriana. Esta variação representa a distinção da microbiota entre os pontos analisados, entretanto, alguns grupos se repetem em todas as amostras independentemente da condição sazonal e espacial. É possível observar também, que algumas bandas possuem intensidade maior indicando um maior número de material genético nestas amostras. Na estação inverno, está faltando uma amostra, nomeada “T_inf”, pois quando essa amostra foi analisada, ela estava sem nenhum material genético, e por isso foi descartada.

Figura 18 - Perfil de bandas dos fragmentos amplificados pela técnica de DGGE.



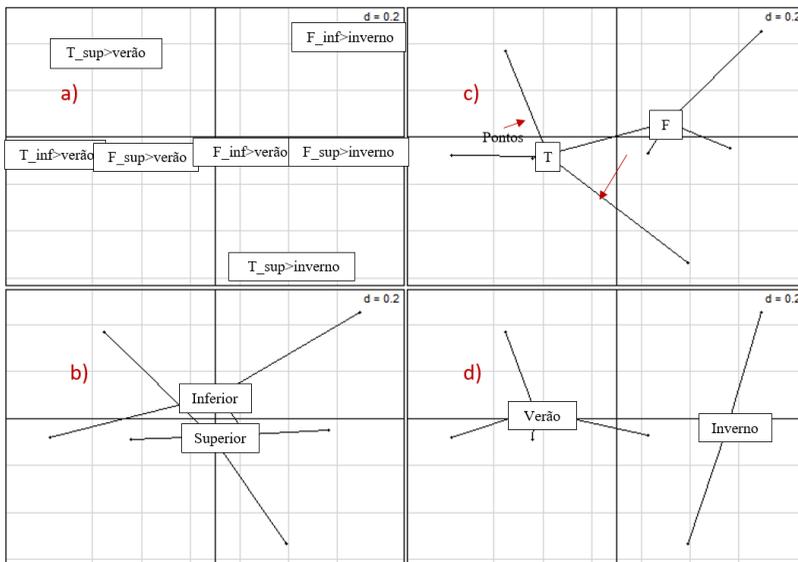
As bandas com maior intensidade foram encaminhadas para o sequenciamento Sanger para que fosse possível identificar os microorganismos amplificados.

Para um melhor entendimento da distribuição bacteriana em relação às variáveis selecionadas, foi realizada a análise estatística de Escalonamento multidimensional não-métrico (nMDS).

5.3.2 NMDS (*non-Metric multidimensional scaling*)

Para a análise nMDS, cada amostra foi representada por um ponto, e quanto maior é a diferença entre as amostras, mais distantes estão os pontos do centro de informação (*labels*). Nesse trabalho, a distância dos pontos aos *labels* mostra a diferença na comunidade bacteriana das amostras. E dentro de cada quadrante, quanto mais distante as amostras estão umas das outras mais significativa é a diferença entre elas. A análise nMDS é apresentada na Figura 19.

Figura 19 - Análise estatística nMDS do gel da DGGE. Representação das amostras (variáveis).



Legenda: a) todas as amostras; b) representa as amostras espaciais (superior e inferior); c) representa as amostras da parte face Sul (T) e as amostras da face Norte (F); d) representa as amostras sazonais, verão e inverno.

Nota-se que no quadrante “a” as variáveis verão encontram-se mais próximas umas das outras do que as variáveis inverno. Além da diferença das amostras dentro de cada estação, existe diferença entre as estações, sendo que três das quatro amostras de verão ocupam quadrantes diferentes das demais amostras. Essa diferença entre as amostras também é observada na Figura 18 devido a diferença de intensidade nos perfis das bandas.

No quadrante “b” as amostras espaciais, superior e inferior, apresentam uma pequena distância entre si, o que pode indicar que para esse sistema os micro-organismos não tiveram grande diferenciação de acordo com a profundidade da camada filtrante.

O quadrante “c” apresenta as amostras da face Norte (F) e face Sul (T) do biofiltro. Nesse quadrante é possível observar uma distância significativa entre as amostras, indicando que existe dissimilaridade na comunidade bacteriana nessa distribuição espacial. Essa dissimilaridade pode ser influenciada pela diferença na incidência solar que cada face do biofiltro recebe, o que altera a temperatura interna do sistema (Figura

14), e também pode estar relacionada com a diferença de umidade em cada região do biofiltro como foi apresentado na Figura 13.

A diferença existente entre as amostras de frente e trás do biofiltro podem influenciar na comunidade bacteriana do meio, onde alguns micro-organismos, apesar de estarem presentes em todas as amostras, podem estar em maior número onde são favorecidos pelas condições ambientais. Na Figura 18, que mostra o perfil das bandas amplificadas por DGGE, é possível observar que algumas bandas são mais intensas nas amostras da frente do biofiltro e aparecem com menor intensidade nas amostras de trás do sistema, isso revela que alguns grupos microbianos estão presentes em maior quantidade parte frontal do sistema.

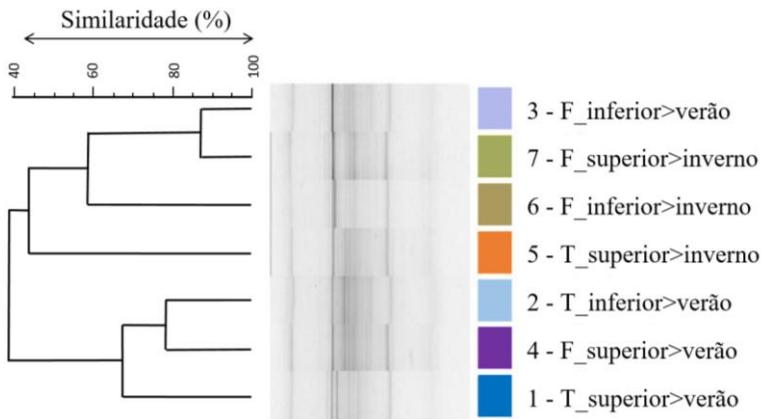
As amostras sazonais são apresentadas no quadrante “d”. Analisando esse quadrante é possível observar a dissimilaridade entre as amostras de verão e inverno, o que deixa as duas amostras em quadrantes opostos e distantes entre si. Esse quadrante evidencia que a temperatura é o fator mais determinante para a diversidade bacteriana dentro do sistema do que a distribuição espacial.

A tendência que se apresenta no quadrante “d” também é observada na Figura 9, onde a concentração de sulfeto de hidrogênio foi apresentada em função das estações do ano. Nesse gráfico é visível que há uma diferença significativa nas concentrações de H_2S que entram no sistema entre as estações verão e inverno. Essa diferença pode influenciar na comunidade bacteriana presente no meio filtrante, onde alguns gêneros podem se destacar frente a outros de acordo com a temperatura ambiente, reforçando os dados encontrados em literatura.

5.3.3 Dedograma de similaridade

Para complementar a análise nMDS foi feito um dendograma de similaridade das amostras (Figura 20). A partir do dendograma, é possível visualizar as semelhanças em porcentagem entre os diferentes perfis de DGGE para as amostras coletadas no sistema de biofiltração.

Figura 20 - Dendograma de similaridade.



Através da análise do dendograma, é possível visualizar a baixa similaridade (40%) entre as estações do ano, ou seja, uma indicação que existe uma diferença dos perfis da comunidade bacteriana encontrada na variável sazonal assim como visualizado no perfil das bandas na análise de DGGE (Figura 18) e na análise estatística nMDS (Figura 19).

Pode-se observar a média similaridade (60%) entre as amostras da frente do biofiltro, independentemente da estação do ano. Esse resultado também é observado na Figura 19, no quadrante “c”, onde se vê que as amostras F (face Norte) estão próximas umas das outras, assim como as amostras T (face Sul), indicando a similaridade dentro de cada grupo de amostra espacial.

No que tange a estação verão há uma similaridade de aproximadamente 65%. Já na estação inverno, o grau de similaridade das amostras chegou a 45%. Esse resultado é observado no quadrante “d” da Figura 19, onde as amostras verão e inverno ocupam quadrantes distintos, mas dentro de cada estação as amostras estão próximas umas das outras.

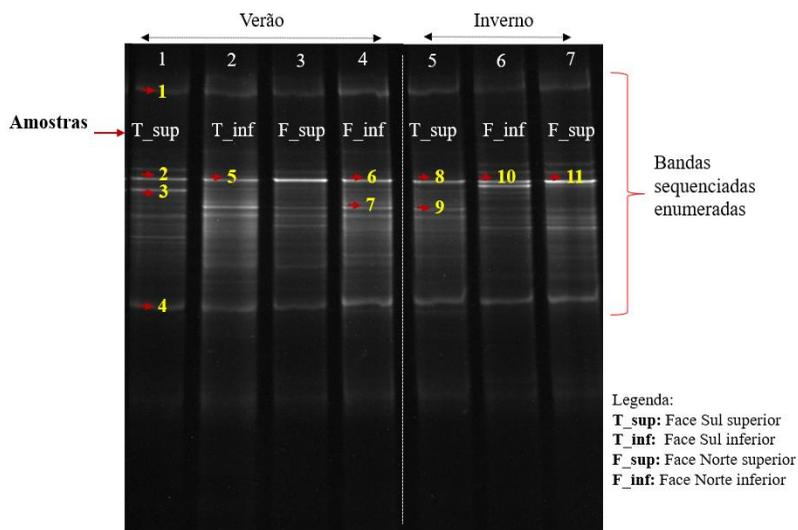
As amostras 2 e 4, indicadas na legenda do dendograma, ambas da estação verão, T_inferior e F_superior, respectivamente obtiveram um grau de similaridade alto (78%), o qual também é visualizado no quadrante “a” da análise estatística nMDS, onde se observa que as amostras estão bem próximas e ocupam o mesmo quadrante.

Já as amostras 3 e 7, que representam estações do ano diferente e locais de coleta também, tiveram um grau de similaridade muito elevado, em torno de 88%.

5.3.4 Sequenciamento SANGER

As bandas mais intensas obtidas no gel DGGE foram submetidas a uma reamplificação com iniciadores 16S, e em seguida, o produto da PCR (DNA reamplificado) foi purificado para, finalmente, ser submetido ao sequenciamento Sanger. As amostras selecionadas estão representadas na Figura 21.

Figura 21 - Bandas sequenciadas.



Os resultados do sequenciamento com a identificação da banda, nível taxonômico identificado pelo Sanger, porcentagem de similaridade, fonte e código de acesso do banco de dados estão expostos na APÊNDICE C - Resultados NCBI-BLAST (Tabela 12).

Os organismos encontrados pelo sequenciamento foram taxonomicamente classificados no Domínio Bactéria. Os microorganismos foram identificados em nível de gênero, em três grupos encontrados nas bandas, a saber: *Methylocystis sp.*, *Steroidobacter sp.* e *Bacillus sp.*, mas também em nível de família: Sinobacteraceae.

A banda número 1 (Figura 21) identificada pertence à família Sinobacteraceae, membro da ordem Xanthomonadales, bactéria aeróbia comuns sistemas biológicos de tratamento de esgotos (ADRADOS et

al., 2014) e que compreendem organismos capazes de decompor poluentes químicos (ZHOU et al., 2008). Micro-organismos da mesma ordem, Xanthomonadales, foram encontrados no estudo de Chouari et al. (2015), em biofiltros que também tratavam sulfeto de hidrogênio com meio filtrante orgânico.

O gênero *Methylocystis sp.*, encontrado na banda número 4 (Figura 21) é o mais metanotrófico e ecologicamente relevante em ambientes terrestres, ou seja, tem uma alta capacidade de oxidar o metano. Além de suas capacidades metabólicas adicionais, como a natureza facultativa, a capacidade de utilizar diferentes fontes de nitrogênio e a fermentação anaeróbica de poli- β -hidroxibutirato (DAM et al., 2012).

Nas bandas 5 e 10 foi encontrado o gênero *Steroidobacter sp.*, o qual é composto por bactérias gram-negativas, mesofílicas, neutrofílicas. As bactérias desse gênero são desnitrificantes e crescem em um número limitado de substratos orgânicos (FAHRBACH et al., 2008). A presença desses organismos pode indicar a presença de amônia na emissão.

No que tange o gênero *Bacillus sp.*, encontrado na banda 7, esse gênero pertence ao filo Firmicutes, o qual é considerado onipresente em sistemas de tratamento de águas residuárias pois é associado a bactérias fecais (ZHAO et al., 2016). O gênero *Bacillus sp.*, pode ser aeróbico ou anaeróbico – facultativo. Muitas espécies deste gênero têm grande capacidade fisiológica, o que lhes permite viver em qualquer ambiente natural (BARON, 1996). No estudo de Xie et al. (2009), o gênero *Bacillus sp.* também foi encontrado. O sistema de biofiltração desenvolvido por Xie et al. (2009) era composto de meio filtrante orgânico, com objetivo de tratar H_2S com concentrações de entrada próximas as desse trabalho.

As bactérias com número de acesso no GenBank FN870204.1 que correspondem as bandas 2, 6, 8 e 11, não foram identificadas a nível de gênero e/ou de espécie. Esse problema de identificação ocorre quando se trata de amostras ambientais, devido à grande quantidade de bactérias ainda desconhecidas deste meio.

O mesmo problema de identificação ocorreu com as bactérias com código de acesso HG529015.1, correspondente a banda 9.

A classe Gamma-proteobacteria, banda 3, assim como o gênero identificado na amostra 1, é constituído por bactérias nitrificantes e que crescem às custas de compostos reduzidos de nitrogênio inorgânico (MADIGAN et al., 2010), novamente indicando que há presença de amônia na emissão. Esta classe representa bactérias gram-negativas do filo Proteobacteria comumente encontradas em estação de tratamento de

esgoto. No estudo de Chouari et al. (2015), a classe Gamma-proteobacteria foi a mais abundante nos biofiltros, com meio filtrante orgânico, em escala real para tratamento de sulfeto de hidrogênio proveniente de estações de tratamento de esgotamento sanitário. Uma ordem muito comum a essa classe é representada pelas Pseudomonadales, que foram encontradas no sistema de biofiltração com meio filtrante de turfa para tratamento de sulfeto de hidrogênio desenvolvido por Omri et al. (2011), e também no biofiltro com meio orgânico de palha para tratamento de H_2S desenvolvido por Xie et al. (2009).

6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Esse trabalho teve como objetivo principal a avaliação da comunidade bacteriana presente em um sistema de biofiltração em escala real para o tratamento de sulfeto de hidrogênio proveniente de uma estação elevatória de esgotos. Além desse objetivo, a eficiência de remoção de H_2S foi avaliada através de métodos físico-químicos e olfatométricos.

Assim sendo, com base nos resultados expostos acima têm-se as seguintes conclusões:

- ❖ O biofiltro apresentou eficiências de remoção do sulfeto de hidrogênio acima de 99% durante a maior parte do período de operação. A eficiência foi atestada através de aparelhos que mediam a concentração do sistema na entrada e na saída, mas também, através do sistema olfativo humano com escalas de intensidade e mudança no caráter do odor após o tratamento. O sistema atendeu as expectativas propostas por esse trabalho e foi aprovado pela população que convivia diariamente com o odor oriundo da estação elevatória. Os moradores da região atestaram uma melhora significativa na qualidade do ar após a instalação do sistema de biofiltração. Apesar do sistema ter uma baixa concentração de entrada, o mesmo mostrou-se estável apesar do longo período de operação de 1224 dias.
- ❖ Os parâmetros ambientais ficaram dentro da faixa estabelecida dita como ótima na literatura. O controle da umidade e a temperatura ambiente foram fundamentais para a manutenção da comunidade bacteriana, o que por fim tornou o sistema eficiente por um longo período. Apesar do tempo de operação, a

turfa (meio filtrante orgânico) permaneceu estável e forneceu as condições necessárias para a manutenção dos micro-organismos.

- ❖ As condições ambientais como profundidade da camada filtrante, estação do ano e incidência solar influenciaram a comunidade bacteriana do meio filtrante. Dentre as condições ambientais analisadas, a estação do ano foi o fator que mais influenciou na comunidade bacteriana, concedendo a estação verão uma maior diversidade bacteriana. O fator que teve menor influência foi a profundidade, já que ao longo da camada filtrante a comunidade bacteriana não teve uma alteração significativa. A incidência solar afetou os micro-organismos presentes no sistema, já que deixava a face Norte com menor teor de umidade que a face Sul, o que pode ter influenciado a diferença da comunidade bacteriana.
- ❖ Os micro-organismos pertencentes ao Domínio Bactéria foram identificados até o nível de gênero nesse trabalho. Pode-se concluir que os gêneros *Methylocystis sp.*, *Steroidobacter sp.* e *Bacillus sp.* e a família Sinobacteraceae compõe a comunidade bacteriana capaz de remover o sulfeto de hidrogênio e transformá-lo em compostos inertes ou menos tóxicos. Fica evidente que mesmo em biofiltros similares ao utilizado nesse trabalho, a comunidade bacteriana é específica para cada sistema, apesar de alguns grupos bacterianos serem os mesmos, a microflora geralmente é diferente.

A partir das conclusões obtidas nessa pesquisa, são sugeridas algumas recomendações para trabalhos futuros:

- ❖ Verificar a remoção de H_2S ao longo da camada filtrante para saber se há alguma parte do sistema que remove mais poluente do que outra.
- ❖ Utilizar técnicas mais avançadas da biologia molecular, como o sequenciamento de Nova geração (Illumina), para uma identificação mais completa, correta e precisa em termos quantitativos e qualitativos da microbiota.

- ❖ Verificar a presença de outros gases como amônia e mercaptanas e a possível presença de micro-organismos degradadores destes compostos.

REFERÊNCIAS

ADLER, Stephen F. et al. Biofiltration- a Primer. **Chemical engineering progress**, v. 97, n. 4, p. 33-41, 2001.

ADRADOS, Bárbara et al. Microbial communities from different types of natural wastewater treatment systems: vertical and horizontal flow constructed wetlands and biofilters. **Water research**, v. 55, p. 304-312, 2014.

ALFONSÍN, Carolina et al. Environmental assessment of different biofilters for the treatment of gaseous streams. **Journal of environmental management**, v. 129, p. 463-470, 2013.

ALFONSÍN, Carolina et al. Selection of odour removal technologies in wastewater treatment plants: a guideline based on Life Cycle Assessment. **Journal of environmental management**, v. 149, p. 77-84, 2015.

ANET, Benoît et al. Characterization and selection of packing materials for biofiltration of rendering odourous emissions. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 224, n. 7, p. 1622, 2013.

ARIZONA INSTRUMENT LLC. Jerome® 631 – X, Hydrogen sulfide analyzer, Operation manual. Arizona, p. 49, 2014.

ARMEEN, A. et al. Biofilters to treat swine facility air: Part 1. Nitrogen mass balance. **Canadian Biosystems Engineering**, v. 50, n. 6.21, 2008.

BAK, F.; PFENNIG, N. Chemolithotrophic growth of *Desulfovibrio sulfodismutans* sp. nov. by disproportionation of inorganic sulfur compounds. **Archives of Microbiology**, v. 147, n. 2, p. 184-189, 1987.

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. 1269-1281, 2006.

BARBUSINSKI, Krzysztof et al. Biological methods for odor treatment—A review. **Journal of Cleaner Production**, v. 152, p. 223-241, 2017.

BARON, Samuel. Medical Microbiology. 4. ed. **Galveston: University Of Texas Medical Branch**, 1996. 1273 p.

BATES, Michael N. et al. Associations of ambient hydrogen sulfide exposure with self-reported asthma and asthma symptoms. **Environmental research**, v. 122, p. 81-87, 2013.

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

BRANCHER, Marlon; DE MELO LISBOA, Henrique. Odour impact assessment by community survey. **Chemical engineering**, v. 40, 2014.

BRIONES, Aurelio; RASKIN, Lutgarde. Diversity and dynamics of microbial communities in engineered environments and their implications for process stability. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 14, n. 3, p. 270-276, 2003.

BOHN, Hinrich L.; BOHN, Karl H. Moisture in biofilters. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 18, n. 3, p. 156-161, 1999.

CABROL, Léa et al. Assessing the bias linked to DNA recovery from biofiltration woodchips for microbial community investigation by fingerprinting. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 85, n. 3, p. 779-790, 2010.

CABROL, Léa et al. Bacterial dynamics in steady-state biofilters: beyond functional stability. **FEMS microbiology ecology**, v. 79, n. 1, p. 260-271, 2012.

CHENG, Yan et al. Challenges and solutions for biofiltration of hydrophobic volatile organic compounds. **Biotechnology advances**, v. 34, n. 6, p. 1091-1102, 2016.

CHEREMISINOFF, Paul N. Industrial odour control. **Butterworth-Heinemann Ltd**. Oxford, p. 222, 1992.

CHERNICHARO, Carlos Augusto et al. Alternativas para o controle de emissões odorantes em reatores anaeróbios tratando esgoto doméstico. **Eng Sanit Ambient**, v. 15, n. 3, p. 229-236, 2010.

CHOUARI, Rakia et al. Microbial analysis and efficiency of biofiltration packing systems for hydrogen sulfide removal from wastewater off Gas. **Environmental Engineering Science**, v. 32, n. 2, p. 121-128, 2015.

CHUNG, Ying-Chien; LIN, Yu-Yen; TSENG, Ching-Ping. Removal of high concentration of NH₃ and coexistent H₂S by biological activated carbon (BAC) biotrickling filter. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 16, p. 1812-1820, 2005.

COLOMER, Fernando Llavador; MORATÓ, Héctor Espinós; IGLESIAS, Enrique Mantilla. Estimation of hydrogen sulfide emission rates at several wastewater treatment plants through experimental concentration measurements and dispersion modeling. **Journal of the Air & Waste Management Association**, [s.l.], v. 62, n. 7, p.758-766, 18 abr. 2012. Informa UK Limited.

CONZALEZ, Raquel García et al. Evaluación del proceso de desodorización en una EDAR: utilización del H₂S como indicador del olor. **Ingeniería química**, n. 435, p. 103-112, 2006.

DAM, Bomba et al. Complete Genome Sequence of Methylocystis sp. Strain SC2, an Aerobic Methanotroph with High-Affinity Methane Oxidation Potential. **Journal Of Bacteriology**. Washington DC, p. 6008-6009. nov. 2012.

DELHOMÉNIE, Marie-Caroline; HEITZ, Michèle. Biofiltration of air: a review. **Critical reviews in biotechnology**, v. 25, n. 1-2, p. 53-72, 2005.

DESHUSSES, Marc A.; HAMER, Geoffrey; DUNN, Irving J. Transient-state behavior of a biofilter removing mixtures of vapors of MEK and MIBK from air. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 49, n. 5, p. 587-598, 1996.

DEVINNY, Joseph S.; DESHUSSES, Marc A.; WEBSTER, Todd Stephen. **Biofiltration for air pollution control**. CRC press, 1998.

DUAN, Huiqi 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. 2629-2636, 2006.

DUMONT, Eric; ANDRÈS, Yves. Evaluation of innovative packing materials for the biodegradation of H₂S: a comparative study. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, [s.l.], v. 85, n. 3, p.429-434, 12 jan. 2010. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.2334>.

ESTRADA, José M. et al. A sensitivity analysis of process design parameters, commodity prices and robustness on the economics of odour abatement technologies. **Biotechnology Advances**, [s.l.], v. 30, n. 6, p.1354-1363, nov. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.02.010>.

ESTRADA, José M. et al. Step-feed biofiltration: a low cost alternative configuration for off-gas treatment. **Water research**, v. 47, n. 13, p. 4312-4321, 2013.

FAHRBACH, Michael et al. *Steroidobacter denitrificans* gen. nov., sp. nov., a steroidal hormone-degrading gammaproteobacterium. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 58, n. 9, p. 2215-2223, 2008.

FREEMAN, T., CUDMORE, R. Review of Odour Management in New Zealand. **Air Quality Technical Report**, New Zealand Ministry of Environment, v. 24, 2002.

FULAZZAKY, Mohamad Ali et al. Biofiltration process as an ideal approach to remove pollutants from polluted air. **Desalination and Water Treatment**, v. 52, n. 19-21, p. 3600-3615, 2014.

GAUDIN, François; ANDRES, Yves; LE CLOIREC, Pierre. Packing material formulation for odorous emission biofiltration. **Chemosphere**, v. 70, n. 6, p. 958-966, 2008.

GUTIÉRREZ-ACOSTA, O. B. et al. Performance of innovative PU-foam and natural fiber-based composites for the biofiltration of a

mixture of volatile organic compounds by a fungal biofilm. **Journal of hazardous materials**, v. 201, p. 202-208, 2012.

HARKNESS, N. Chemistry of septicity. **Septic Sewage: Problems and Solutions**. IWPC, Maidstone, Kent, p. 7-17, 1979.

HERNÁNDEZ, Jerónimo et al. Development and application of a hybrid inert/organic packing material for the biofiltration of composting off-gases mimics. **Journal of hazardous materials**, v. 178, n. 1, p. 665-672, 2010.

HONG, J. H.; PARK, K. J. Compost biofiltration of ammonia gas from bin composting. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 6, p. 741-745, 2005.

HWANG, Sz-Chwun John; WU, Shang-Ju; LEE, Chi-Mei. Water transformation in the media of biofilters controlled by *Rhodococcus fascians* in treating an ethyl acetate-contaminated airstream. **Journal of the Air & Waste Management Association**, v. 52, n. 5, p. 511-520, 2002.

JIN, Yaomin; VEIGA, María C.; KENNES, Christian. Autotrophic deodorization of hydrogen sulfide in a biotrickling filter. **Journal of chemical technology and biotechnology**, v. 80, n. 9, p. 998-1004, 2005.

KENNES, Christian; RENE, Eldon R.; VEIGA, María C. Bioprocesses for air pollution control. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 84, n. 10, p. 1419-1436, 2009.

KENNES, Christian; VEIGA, María C. (Ed.). Bioreactors for waste gas treatment. **Springer Science & Business Media**, 2001.

KIM, Jung Hoon; RENE, Eldon R.; PARK, Hung Suck. Biological oxidation of hydrogen sulfide under steady and transient state conditions in an immobilized cell biofilter. **Bioresource technology**, v. 99, n. 3, p. 583-588, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.028>.

KIM, Seongyup; DESHUSSES, Marc A.. Understanding the limits of H₂S degrading biotrickling filters using a differential biotrickling filter. **Chemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 113, n. 2-3, p.119-126, out. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2005.05.001>.

KRAILAS, Satida; PHAM, Q. Tuan. Macrokinetic determination and water movement in a downward flow biofilter for methanol removal. **Biochemical Engineering Journal**, v. 10, n. 2, p. 103-113, 2002.

KUMAR, Thakur Prabhat; RAHUL, M. A.; CHANDRAJIT, Balomajumder. Biofiltration of volatile organic compounds (VOCs): An overview. **Research Journal of Chemical Science**, v. 2231, p. 606X, 2011.

LEBRERO, Raquel et al. H₂S and VOCs abatement robustness in biofilters and air diffusion bioreactors: a comparative study. **Water Research**, v. 44, n. 13, p. 3905-3914, 2010.

LEBRERO, Raquel et al. A comparative assessment of biofiltration and activated sludge diffusion for odour abatement. **Journal of Hazardous Materials**, v. 190, n. 1, p. 622-630, 2011a.

LEBRERO, Raquel et al. Odor assessment and management in wastewater treatment plants: a review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 41, n. 10, p. 915-950, 2011b.

LEE, Sang-hun et al. Biofiltration of a mixture of ethylene, ammonia, n-butanol, and acetone gases. **Bioresource technology**, v. 127, p. 366-377, 2013.

LI, Lin et al. H₂S removal and bacterial structure along a full-scale biofilter bed packed with polyurethane foam in a landfill site. **Bioresource technology**, v. 147, p. 52-58, 2013.

LU, Shipeng et al. Ecophysiology of Fe-cycling bacteria in acidic sediments. **Applied and environmental microbiology**, v. 76, n. 24, p. 8174-8183, 2010.

LUXMY, B. S.; NAKAJIMA, F.; YAMAMOTO, K. Predator grazing effect on bacterial size distribution and floc size variation in membrane-separation activated sludge. **Water science and technology**, v. 42, n. 3-4, p. 211-217, 2000.

MADIGAN, Michael T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. São Paulo: Artmed Editora S.A., 2010.

MALHAUTIER, Luc et al. Biofiltration of volatile organic compounds. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 68, n. 1, p. 16-22, 2005.

MCGINLEY, Michael A. et al. Olfactomatics: Applied Mathematics For Odor Testing. **Proceedings of the Water Environment Federation**, v. 2000, n. 3, p. 446-464, 2000.

MCNEVIN, Dennis; BARFORD, John. Biofiltration as an odour abatement strategy. **Biochemical Engineering Journal**, v. 5, n. 3, p. 231-242, 2000.

MELO, Adriano Sanches; HEPP, Luiz Ubiratan. Ferramentas estatísticas para análises de dados provenientes de biomonitoramento. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 8, 2008.

MORALES, M. et al. Biofiltration of hydrogen sulfide by *Sulfolobus metallicus* at high temperatures. **Water Science and Technology**, v. 66, n. 9, p. 1958-1961, 2012.

NICELL, Jim A. Assessment and regulation of odour impacts. **Atmospheric Environment**, v. 43, n. 1, p. 196-206, 2009.

OMRI, Ilhem et al. H₂S gas biological removal efficiency and bacterial community diversity in biofilter treating wastewater odor. **Bioresource technology**, v. 102, n. 22, p. 10202-10209, 2011.

OTTENGRAF, Simon PP. Biological systems for waste gas elimination. **Trends in Biotechnology**, v. 5, n. 5, p. 132-136, 1987.

OYARZÚN, Patricio et al. Biofiltration of high concentration of hydrogen sulphide using *Thiobacillus thioeparus*. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 2, p. 165-170, 2003.

PANTOJA FILHO, Jorge Luis Rodrigues et al. Performance evaluation of packing materials in the removal of hydrogen sulphide in gas-phase biofilters: Polyurethane foam, sugarcane bagasse, and coconut fibre. **Chemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 158, n. 3, p.441-450, abr. 2010. Elsevier BV.

PARCSI, Gavin et al. Odour: Characterisation and Transformation. **Chemical engineering**, v. 30, 2012.

PARK, K. J.; CHOI, M. H.; HONG, J. H. Control of composting odor using biofiltration. **Compost science & utilization**, v. 10, n. 4, p. 356-362, 2002.

PINHATI, F. R. Caracterização molecular da população bacteriana do lodo de Refinaria de Petróleo por PCR-DGGE e RAPD. 2008. 118 f.. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - **Universidade Federal do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro.

POWERS, Wendy. The science of smell part I: odor perception and physiological response. **Iowa State University of Science and Technology**, Ames, IA, 2004.

PUTKINEN, Anuliina et al. Peatland succession induces a shift in the community composition of Sphagnum-associated active methanotrophs. **FEMS microbiology ecology**, v. 88, n. 3, p. 596-611, 2014.

RAMÍREZ, Martín 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.

RANZATO, Laura et al. A comparison of methods for the assessment of odor impacts on air quality: Field inspection (VDI 3940) and the air dispersion model CALPUFF. **Atmospheric environment**, v. 61, p. 570-579, 2012.

REVAH, Sergio; MORGAN-SAGASTUME, Juan M..In: **Biotechnology For Odor And Air Pollution Control**. Heidelberg: Springer, 2005. Cap. 3. p. 29-63.

ROBERTSON, Lesley A.; KUENEN, J. Gijs. The colorless sulfur bacteria. In: **The prokaryotes**. Springer New York, 2006. p. 985-1011.

RIBEIRO, J. T. Controle de odores em sistemas de esgoto sanitário. **Esgoto sanitário: coleta, transporte, tratamento e reúso agrícola**. São Paulo, Brasil, p. 485-520, 2003.

SCHLEGELMILCH, M.; STREESE, J.; STEGMANN, R. Odour management and treatment technologies: an overview. **Waste management**, v. 25, n. 9, p. 928-939, 2005.

SHAREEFDEEN, Zarook M. A biofilter design tool for hydrogen sulfide removal calculations. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 14, n. 4, p. 543-549, 2011.

SHAW, Andrew R.; KOH, Sock-Hoon. Gaseous emissions from wastewater facilities. **Water environment research**, v. 84, n. 10, p. 1325-1331, 2012.

SHAMMAY, Ari et al. Review of odour abatement in sewer networks. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 4, p. 3866-3881, 2016.

SIGURDSSON, Haraldur et al. (2 Ed.). The encyclopedia of volcanoes. **Elsevier**, 2015.

SILVEIRA, Daniele Damasceno et al. Potencial de remoção de nitrogênio em um único estágio de filtros plantados com macrófitas para o tratamento de esgoto doméstico bruto: aporte da biologia molecular para a compreensão dos processos. 2015.

STUETZ, R., FRENCHEN, F.B. Odour Wastewater Treatment, Measurement, Modelling and Control. **Ed. IWA – Publishing**. London. 2001. 437p.

SUCKER, Kirsten et al. Odor frequency and odor annoyance. Part I: assessment of frequency, intensity and hedonic tone of environmental odors in the field. **International archives of occupational and environmental health**, v. 81, n. 6, p. 671-682, 2008.

SYED, M. et al. Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological processes: A review. **Canadian Biosystems Engineering**, v. 48, p. 2, 2006.

TANG, Kimberley; BASKARAN, Vikrama; NEMATI, Mehdi. 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, 2009.

- VAN GROENESTIJN, Johan W.; HESSELINK, Paul GM. Biotechniques for air pollution control. **Biodegradation**, v. 4, n. 4, p. 283-301, 1993.
- VAN GROENESTIJN, J. W.; KRAAKMAN, N. J. R. Recent developments in biological waste gas purification in Europe. **Chemical Engineering Journal**, v. 113, n. 2, p. 85-91, 2005.
- VAN LANGENHOVE, Herman; WUYTS, E.; SCHAMP, Niceas. Elimination of hydrogen sulphide from odorous air by a wood bark biofilter. **Water Research**, v. 20, n. 12, p. 1471-1476, 1986.
- VDI – Verein Deutscher Ingenieure – Olfactometry. 1992. VDI 3882 (part 1) - Determination of odour intensity, Berlin.
- VERGARA, A. O. Modelado y simulacion de un biofiltro para el tratamiento de gases contaminados con compuestos sulfurados. **Información Tecnológica**, v. 1, n. 3-2002, p. 17.
- WAGNER, Michael; LOY, Alexander. Bacterial community composition and function in sewage treatment systems. **Current opinion in biotechnology**, v. 13, n. 3, p. 218-227, 2002.
- WANG, Lu et al. Enhanced removal of ethylbenzene from gas streams in biotrickling filters by Tween-20 and Zn (II). **Journal of Environmental Sciences**, v. 26, n. 12, p. 2500-2507, 2014.
- XIE, B. et al. Petrochemical wastewater odor treatment by biofiltration. **Bioresource technology**, v. 100, n. 7, p. 2204-2209, 2009.
- XU, Mengying et al. Preparation and hydrogen sulfide gas-sensing performances of RuO₂/NaBi (MoO₄)₂ nanoplates. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 688, p. 504-509, 2016.
- YANG, Chunping et al. Performance of biotrickling filters packed with structured or cubic polyurethane sponges for VOC removal. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 8, p. 1325-1333, 2011.

YANG, Y., & ALLEN, E. R. Biofiltration control of hydrogen sulfide 1. Design and operational parameters. **Air & Waste**, 44(7), p. 863-868, 1994.

ZHAO, Xinyue et al. Microbial population dynamics in response to bioaugmentation in a constructed wetland system under 10 C. **Bioresource technology**, v. 205, p. 166-173, 2016.

ZARRA, T. et al. Odour monitoring of small wastewater treatment plant located in sensitive environment. **Water Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 89-94, 2008.

ZHOU, Yu et al. Description of *Sinobacter flavus* gen. nov., sp. nov., and proposal of Sinobacteraceae fam. nov. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 58, n. 1, p. 184-189, 2008.

APÊNDICE A – Questionário de intensidade odorante



DATA: ___/___/___

ANÁLISE DE INTENSIDADE ODORANTE

Lembre-se que este questionário refere-se a intensidade do odor sentida **no biofiltro**.

Informações

Local de Trabalho: _____

Idade				
Sexo	Feminino ()	Masculino ()		
Fumante	Sim ()	Não ()		
Temperatura	Frio ()	Quente ()	Abafado ()	
Nebulosidade	Céu limpo ()	Nublado ()	Garoa ()	Chuva ()

1. Entrada (2º ponto cheirado/ orifício na parede do biofiltro)
 - a. Você está sentindo algum tipo de odor?
Sim () Não ()
 - b. Este odor é:
Muito Fraco () Fraco () Moderado () Forte () Muito Forte ()
 - c. Descreva o odor sentido:

2. Saída (1º ponto a ser sentido/ telhado do biofiltro)
 - d. Você está sentindo algum tipo de odor?
Sim () Não ()
 - e. Este odor é:
Muito Fraco () Fraco () Moderado () Forte () Muito Forte ()
 - f. Descreva o odor sentido:

APÊNDICE B – Questionário de caráter odorante



DATA: ___/___/___

ANÁLISE DE CARÁTER ODORANTE

Lembre-se que este questionário refere-se ao incômodo causado pelo odor que você sente quando está no biofiltro.

Informações

Local de Trabalho: _____

Idade				
Sexo	Feminino ()	Masculino ()		
Fumante	Sim ()	Não ()		
Temperatura	Frio ()	Quente ()	Abafado ()	
Nebulosidade	Céu limpo ()	Nublado ()	Garoa ()	Chuva ()

1. Você sente algum odor que te causa incômodo?

Sim () Não ()

2. Este odor é:

- a. Muito fraco () ;
- b. Fraco () ;
- c. Moderado () ;
- d. Forte () ;
- e. Extremamente Forte () ;
- f. Inodoro () .

3. Como você descreve este odor:

- a. Ovo podre () ;
- b. Esgoto () ;
- c. Oleo queimado () ;
- d. Gasolina () ;
- e. Solo úmido () ;
- f. Outros () .

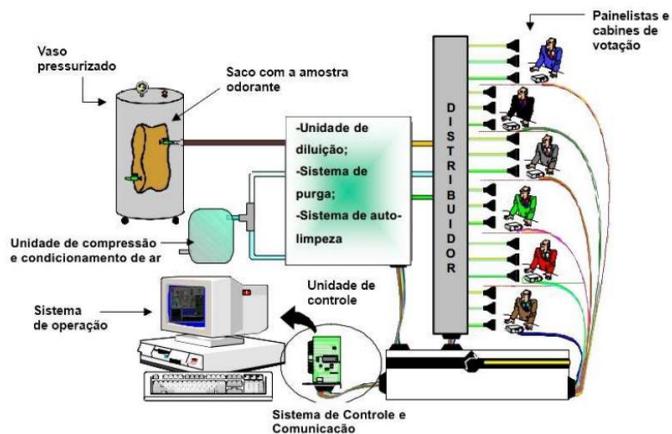
APÊNDICE C - Resultados NCBI-BLAST

Tabela 12 - Resultados NCBI-BLAST para as seqüências retiradas das bandas do gel de DGGE.

Bandas	Grupos	%*	Fonte	Nº de acesso GenBank
1	Bactéria <i>Sinobacteraceae</i> não cultivada METASED17 gene 16S RNA ribossomal, seqüência parcial	95	<i>Metagenomic diversity survey of photosynthetic microbial communities from thermal and acidophilic biofilms</i>	KJ907770.1
2; 6; 8; 11	Bactéria não cultivada clone gene 16S rRNABacI_clone21	98	<i>Ecophysiology of Fe-cycling bacteria in acidic sediments</i>	FN870204.1
3	Bactéria não cultivada <i>Gammaproteobacterium</i> gene 16S RNA ribossomal, seqüência parcial rs-jx23	99	<i>The effects of aluminum stress on bacterial community diversity in acidic red soils by polymerase chain reaction (PCR)-amplified restriction fragment length polymorphism</i>	AB679941.1
4	Bactéria <i>Methylocystis sp.</i> KS33 gene 16S RNA ribossomal, seqüência parcial	90	<i>Molecular phylogeny of type II methane-oxidising bacteria isolated from various environments</i>	AJ458506.1
5; 10	Bactéria <i>Steroidobacter sp.</i> Clone A483 16S RNA ribossomal, seqüência parcial	97	<i>Direct Submission Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Weigang No. 1, Nanjing, Jiangsu 210095, China</i>	JF833541.1
7	Bactéria <i>Bacillus sp.</i> Glu216S RNA ribossomal, seqüência parcial	88	<i>Isolation and characterization of biofuel producing microbes from DUSEL</i>	GQ254074.1
9	Bactéria não cultivada clone gene 16S rRNA SJ_fim1_10	86	<i>Peatland succession induces a shift in the community composition of Sphagnum-associated active methanotrophs</i>	HG529015.1

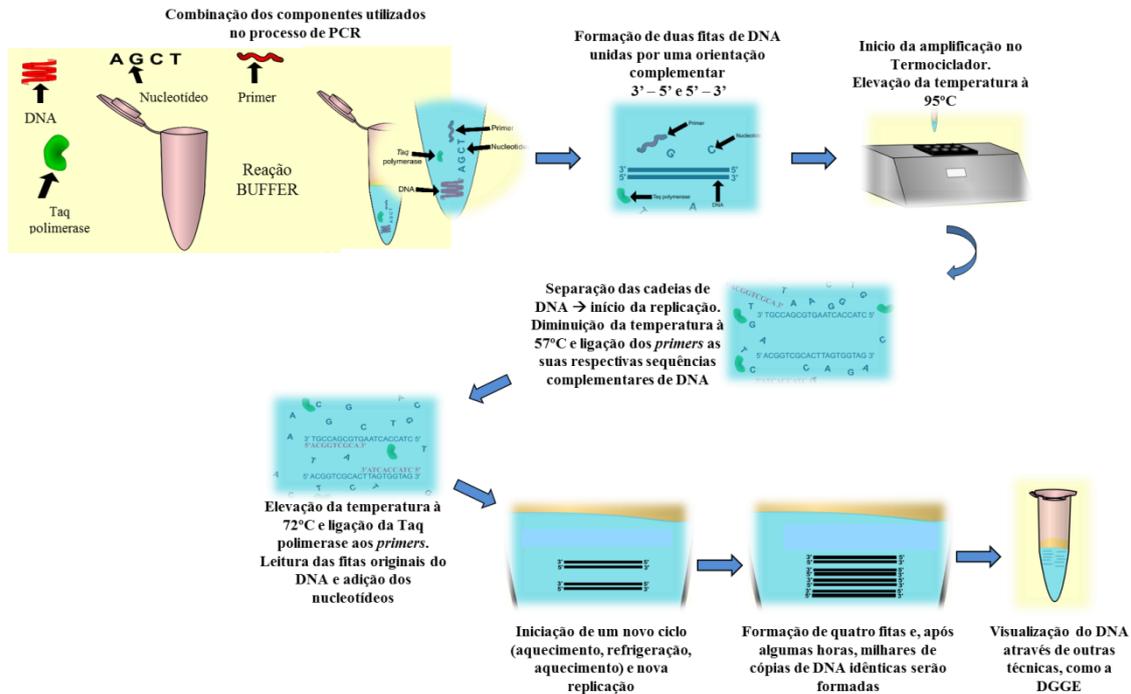
* (%) – porcentagem de similaridade

ANEXO A – Sistema de operação olfatômetro Odile – 2000.



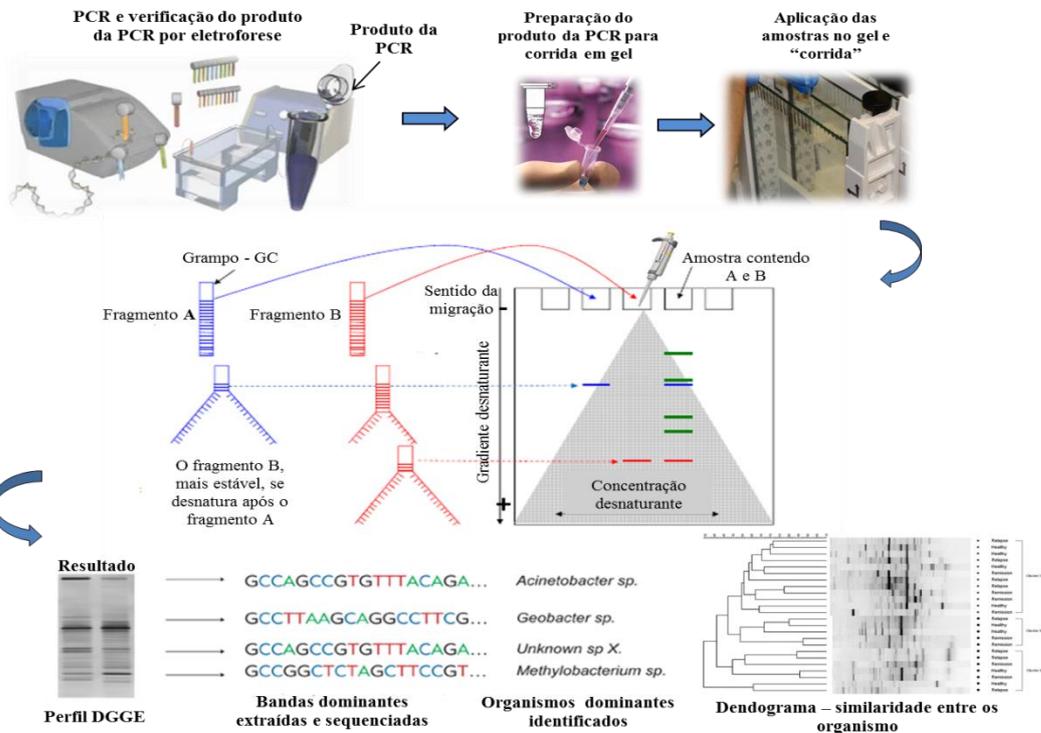
Fonte: Adaptado de Odotech (2003).

ANEXO B - Esquema de corrida da PCR



Fonte: Silveira (2015).

ANEXO C – Etapas da DGGE



Fonte: Silveira (2015).