Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Tecnologia e Geociências
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil
Área de Concentração: Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos

TESE DE DOUTORADO

TRATAMENTO DE ÁGUA DE PRODUÇÃO EM REATOR ANAERÓBIO

Maria Clara Mavia de Mendonça

RECIFE – PE, 2009

Maria Clara Mavia de Mendonça

TRATAMENTO DE ÁGUA DE PRODUÇÃO EM REATOR ANAERÓBIO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia Civil.

Área de Concentração: Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos.

Orientadora: Maria de Lourdes Florencio dos Santos
Co-orientador: Mario Takayuki Kato

Recife
2009

M539t **Mendonça, Maria Clara Mavia de.**
Tratamento de água de produção em reator anaeróbio /Maria Clara Mavia de Mendonça. - Recife: O Autor, 2010.
Xiii,140f.; il., tabs.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, 2010.

Inclui Referências e Apêndice.

1. Engenharia civil. 2. Água de produção de petróleo. 3. Alta salinidade. 4. Tratamento anaeróbio. 5. Íon antagonizante. 6. UASB. 7. Toxicidade I. Título.

624 CDD (22. ed.) UFPE/BCTG/2010-036

TRATAMENTO DE ÁGUA DE PRODUÇÃO EM REATOR ANAERÓBIO

Maria Clara Mavia de Mendonça

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO COMO PARTE INTEGRANTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM ENGENHARIA CIVIL

Maria de Lourdes Florencio dos Santos
Orientador, Ph. D.

Mario Takayuki Kato
Co-Orientador, Ph. D.

Sandra Tédde Santaella
Examinador Externo, D. Sc.

Henio Normando de Souza Melo
Examinador Externo, Dr.

Valdinete Lins da Silva
Examinador Externo, D. Sc.

Cristiane Maria Varela de Araújo de Castro
Examinador Externo, D. Sc.

Recife, PE
Dezembro de 2009

À minha querida Avó paterna, Alaíde, pelo exemplo de amor....
(em memória)

"...O mundo pode te fazer chorar, mas Deus te quer sorrindo...."
(Padre Marcelo Rossi)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a DEUS, Pai Celestial e provedor em todas as horas.

E meus sinceros agradecimentos**...**

Ao meu amado filho João Pedro Mendonça Cunha, por ter nascido num período tão conturbado da minha vida pessoal e mesmo assim ser tão apegado a mim. Desculpas filho, por tê-lo privado de atenção e momentos de brincadeiras, amo você! E obrigada por, com toda a sua sabedoria de 3 anos, sempre me incentivar a terminar a tese.

À minha mãe, Elenita da Mota Silveira, pelo amor incondicional sempre dado a mim e agora ao meu filho.

Ao meu esposo, Francisco José de Assis Cunha, pelo companheirismo e sabedoria com as palavras e situações, ao longo de todos esses anos de pesquisa.

Ao meu pai, irmãos e toda minha querida família, e com um carinho em particular ao meu tio Luiz Carlos Alves de Mendonça.

Ao professor Mario Takayuki Kato, pela oportunidade, pelo aprendizado e pelo meu amadurecimento profissional.

À professora Lourdinha Florencio, pela sinceridade e atenção dada num momento tão necessário.

À professora Sávia Gavazza, exemplo de jovem profissional, sempre pronta a me ajudar.

À professora Letícia Oliveira, por toda atenção e apoio dado no início desse trabalho, obrigada por sempre me escutar.

Ao nosso querido e amado técnico responsável do LSA, Ronaldo Fonseca, por ao longo dos anos de convívio me dá sempre apoio, material, intelectual e/ou espiritual, em meio a tantos problemas e afazeres.

À minha amiga de todas as horas, Janaína Braz Silva, companheira de trabalho, conselheira nos momentos de crise e desilusão, que tanto me ajudou nessa caminhada. Não tenho palavras para te agradecer amiga.

À Taciana Antônia dos Santos, companheira de equipe, grata pelo trabalho feito em conjunto e ajuda durante a parte experimental.

À Juliana Paixão, pela oportunidade de orientar a sua monografia de conclusão de curso e por você me ensinar a não procrastinar e sempre persistir.

À Maurício Pimenta e Jackeline Cabral, pessoas determinadas, inteligentes e amigas, que me mostraram o quanto vale a pena continuar.

À Danilo Mamede, grata por toda a ajuda na preparação das repetidas lâminas microbiológicas, feitas com tanto zelo, boa vontade e eficiência. Grata também pelos momentos alegres, por me fazer ver as diversas faces da mesma moeda, além de sempre me fazer sorrir e orar por mim nos momentos de crise.

À Dani Patrice Lima, pela ajuda na longa parte experimental, pela amizade sincera, presteza, calma e incentivo, principalmente nas nossas conversas nos intervalos de almoço.

À Anny Gabrielle Torreiro, que tanto fez na parte dos testes ecotoxicológicos, grata pela eficiência e amizade. Agradeço também a professora, Lilia Souza Santos por disponibilizar o Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia (LACE) do Departamento de Oceanografia da UFPE para a realização dos testes.

Aos irmãos, tão sábios e dinâmicos Paulo Vieira e Esmerindo Vieira, por terem sido sempre tão prestativos, inteligentes e carinhosos comigo, obrigada!

À Ednaldo Gomes, pela ajuda nas análises microscópicas, feitas com o corante DAPPI, no Laboratório de Citogenética Vegetal do Departamento de Botânica da UFPE.

Obrigada pelo auxílio na interpretação dos dados microbiológicos e pelas gentilezas constantes.

À Kênia Barros, amiga desde o mestrado, pela atenção e bondade na leitura e correções de todo o texto (em tempo recorde), me ajudando na busca do meu objetivo.

Aos meus amigos de hoje e sempre, integrantes da minha turma de mestrado e ex-companheiros do LSA, André Luiz Silva, André Felipe Sales Santos, Valmir Marques, Rosângela Gomes Tavares, Silvana Araújo, Ester Oliveira, Ana Maria Bastos, Marília Lyra, Suzana Pedroza, Simone Souza, Simone Machado, Petronildo Bezerra e Ronaldo Faustino, pela amizade, por terem me ajudado nas dúvidas e soluções, compartilhando alegrias e tristezas durante os últimos anos.

Agradeço a todos os integrantes do LSA e em especial aos amigos de bancada, sempre tão cordiais e dedicados. Grato por terem me ajudado, seja na realização de uma análise ou na compreensão de um dado experimental: Carla Chagas, Luíza Feitosa, Elisabeth Amaral, Juliana Morais, Luis Galdino, Wamberto Jr., Djalma Ferraz, Sandra Amorim, Gleyce Andrade, Poliana Januário, Sheylane Luz, Larissa Souza, Dani Silva, Rafael Maranhão e Edécio Souza.

À Universidade Corporativa da Petrobras, pela bolsa de doutorado concedida.

Ao Engenheiro de Processamento Pleno da Petrobras - Márcio Rogério Leão Lopes e a Simone Pedrosa pela obtenção das amostras na unidade, e por terem sido sempre atenciosos e prestativos, sendo isso de fundamental importância para a realização desse trabalho.

Ao CENPES, e em especial a Ana Paula Torres, minha Supervisora na Petrobras, por fornecer todo o apoio e informações necessárias e por sempre ter me ajudado e facilitado todos os entraves burocráticos. Ainda no CENPES, agradeço a Adriana Ururahy por ter me aberto as portas dentro da instituição.

Ao coordenador e professores integrantes da RELINE – Rede de Resíduos Líquidos do Nordeste, por ter participado efetivamente dos projetos e pela ajuda na compreensão dos dados durante a pesquisa.

À atribulada secretária da Pós-Graduação em Engenharia Civil da UFPE, Andrea Negromonte, por sua capacidade de administrar tantos pedidos de forma caótica e divertida, porém muito prática e principalmente eficiente.

À todos os professores e funcionários da UFPE, que juntos com os amigos contribuíram para minha formação profissional. E aqueles não citados, mas que em qualquer momento estenderam a mão ou me deram uma palavra de apoio, muito obrigada.

RESUMO

MENDONÇA M. C. M., (2009) **Tratamento de água de produção em reator anaeróbio** - Tese (Doutorado) - Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife (2009).

RESUMO – A água de produção de petróleo (AP) é oriunda da extração do petróleo e sua produção em excesso se tornou uma das maiores preocupações na indústria petrolífera. Normalmente é gerada em grandes volumes e contém altos teores de sais e uma mistura complexa de compostos orgânicos e inorgânicos. Os principais objetivos da pesquisa foram estudar a tratabilidade anaeróbia da AP (diluída em esgoto sanitário sintético), através de dois reatores anaeróbios tipo UASB, em escala de laboratório e com biomassa não adaptada; além de verificar e comparar a influência do uso do íon potássio como antagonizante ao efeito tóxico do sódio. Também foi estudada a degradabilidade aeróbia da AP, antes e após o tratamento anaeróbio; e a sua toxicidade ao organismo *Tisbe Biminienses*. A adição de potássio e a posterior diminuição de carga orgânica, não ocasionaram melhoria significativa de eficiência de remoção de DQO, nos dois reatores; já a mudança de co-substrato para metanol beneficiou o sistema. A diminuição ou retirada do co-substrato acarretou queda da eficiência de remoção de DQO. Em meio aeróbio, mesmo após o tratamento anaeróbio, a remoção de DQO, com lodo não adaptado, foi de aproximadamente 50%. Nos bioensaios a CL50 com 96 horas de experimento, obtida com o *Tisbe Biminienses*, foi de 9,64 e 7,63%.

PALAVRAS-CHAVE: Água de produção de petróleo, alta salinidade, tratamento anaeróbio, UASB, íon antagonizante, toxicidade.

ABSTRACT

MENDONÇA M. C. M., (2009) **Study of treatability of saline water production oil in biological reactors** - Thesis (PhD) - Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife (2009).

ABSTRACT – The water production oil (PW) come from the extraction of oil and its production in excess has become a major concern in the oil industry. Normally its product in large volumes and contains high levels of salt and a complex mixture of organic and inorganic compounds. The research objective was to study the PW anaerobic treatability (diluted with synthetic domestic sewage) through two anaerobic reactors on laboratory scale, UASB type, and study the influence of the potassium use, like ion antagonist for the sodium toxic effect. Also is studied the aerobic degradability of PW and its toxicity to the *Tisbe Biminienses*. The addition of potassium and the subsequent reduction of organic load, did not bring significant improvement in efficiency of COD removal in both reactors, since the change of co-substrate for methanol benefited the system. The reduction or withdrawal of co-substrate led to drop in efficiency of COD removal. In an aerobic medium, even after the anaerobic treatment, the COD removal, with non-adapted sludge, was approximately 50%. In bioassays LC50 to 96 hours of the experiment, obtained with the *Tisbe Biminienses*., was 9.64 and 7.63%.

KEY-WORDS: Oil produced water, high salinity, anaerobic treatment, UASB, antagonist ion, toxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
Figura 4.1: Foto ilustrativa do aparato para realização dos testes de AME e de biodegradabilidade anaeróbia.	42
Figura 4.2: Esquema do aparato para realização dos testes de AME e de biodegradabilidade anaeróbia.	42
Figura 4.3: Reator tipo UASB.	44
Figura 4.4: Esquema do reator UASB.	44
Figura 5.1: Fluxograma simplificado da planta da estação de tratamento de efluentes do Ativo Pilar-Alagoas.	53
Figura 5.2: Freqüência de ocorrência dos HPAs nas amostras de AP analisadas.	57
Figura 5.3: Água de produção *in natura*.	65
Figura 5.4: Água de produção após a análise de sólidos totais.	65
Figura 5.5: Copépodo *Tisbe biminiensis*.	67
Figura 5.6: Porcentagem de sobrevivência das fêmeas à água de produção para a 4ª coleta.	69
Figura 5.7: Porcentagem de sobrevivência das fêmeas à água de produção para a 5ª coleta.	70
Figura 5.8: Conversão da produção de metano em DQO no teste inicial de AME, em comparação com o ES e os nutrientes, com 2% (a), 5% (b), 10% (c) e 15% (d) de AP.	75
Figura 5.9: Produção de metano no teste inicial de AME, em comparação com o ES e os nutrientes, com 2% (a), 5% (b), 10% (c) e 15% (d) de AP.	76
Figura 5.10: Variação do pH e da alcalinidade total ao longo das Fases I-VII.	96
Figura 5.11: Variação da DQO ao longo das Fases I-VIII e da salinidade (sódio) ao longo das Fases I-V.	97
Figura 5.12: Variação dos teores de cálcio e potássio ao longo das Fases I-V.	98
Figura 5.13: Variação dos teores de AOV ao longo das Fases I-VII e nitrogênio amoniacal ao longo das Fases I-V.	99
Figura 5.14: Porcentagem de DQO removida e volume de biogás gerado no teste 1 anaeróbio.	105
Figura 5.15: Porcentagem de DQO removida e volume de biogás gerado no teste 2 anaeróbio.	106
Figura 5.16: Porcentagem de remoção e decaimento da DQO, no teste aeróbio 1, usando o mesmo afluente (AF) ao reator anaeróbio na Fase VII e o seu efluente (EF).	107
Figura 5.17: Decaimento e porcentagem de remoção de DQO no teste aeróbio 2, usando mesmo afluente ao reator anaeróbio na Fase VII.	109
Figura 5.18: Amostras do Reator A na Fase IV, visualizadas em microscópio de contraste de fase.	120
Figura 5.19: Amostras do Reator B na Fase IV, visualizadas em microscópio de contraste de fase.	120
Figura 5.20: Amostras do Reator A e B, visualizadas em microscópio de epifluorescência (I e I': Inóculo; IA e IA': Fase I no Reator A; IB E IB': Fase I no Reator B).	121
Figura 5.21: Amostras do Reator A e B, visualizadas em microscópio de epifluorescência (Fase II-A; Fase II-B; Fase III-A; Fase III-B).	122
Figura 5.22: Amostras do Reator A e B, visualizadas em microscópio de epifluorescência (Fase V-A; Fase V-B)	122
Figura 5.23: Amostras do Reator A e B, visualizadas em microscópio de epifluorescência (Fase VI-A; Fase VI-B).	123
Figura 5.24: Amostras do Reator A e B, visualizadas em microscópio de epifluorescência (Fase IX-A; Fase IX-B).	123

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 3.1: Resumo dos valores médios de alguns parâmetros da caracterização da AP realizada para a Bacia de Campos-RJ.	08
Tabela 3.2: Composição média da AP de Pilar-Alagoas em diversos pontos do Ativo.	09
Tabela 3.3: Composição média da AP em campos *onshore* de Sergipe, offshore do Ceará.	10
Tabela 3.4: Concentrações (em mg/L) consideradas estimulatórias e inibitórias de cátions alcalinos e alcalinos terrosos.	23
Tabela 4.1: Análises e métodos utilizados na caracterização físico-química da AP.	34
Tabela 4.2: Condições impostas ao CG para a determinação de BTEX.	35
Tabela 4.3: Condições do HPLC para análise de HPAs.	37
Tabela 4.4: Soluções de macro e micro nutrientes.	41
Tabela 4.5: Parâmetros de projeto dos reatores UASB.	43
Tabela 4.6: Composição do esgoto sanitário sintético (ES).	45
Tabela 4.7: Análise da variância (ANOVA).	48
Tabela 5.1: Caracterização da AP coleta nos pontos P_1, P_2 e P_4 durante a primeira coleta.	55
Tabela 5.2: Resumos das características físico-químicas obtidas para a AP no ponto P1 em 13 coletas realizadas de julho de 2007 até março de 2009.	56
Tabela 5.3: Resultados de BTEX e fenóis totais em diversos poços no mar do Norte.	59
Tabela 5.4: Comparação entre os valores médios dos parâmetros comuns entre a caracterização realizada na pesquisa e o trabalho de Castro et al. (2007), ambos no mesmo ponto de coleta (P_1).	61
Tabela 5.5: Composição de cátions e ânions em águas de rio, mar, intersticiais e de campos de óleo (g/L).	66
Tabela 5.6: Parâmetros de caracterização da amostra nas coletas utilizadas para o teste de ecotoxicidade.	68
Tabela 5.7: Resultados da CL50 ao longo do tempo para a 4ª e 5ª coleta de AP.	71
Tabela 5.8: Comparação dos resultados da CL50 entre algumas espécies de microcrustáceos e diferentes substratos.	73
Tabela 5.9: Condições e resultados do teste inicial de AME.	75
Tabela 5.10: Resumo das condições e resultados médios das fases operacionais no Reator A.	81
Tabela 5.11: Resumo das condições e resultados médios das fases operacionais no Reator B.	81
Tabela 5.12: Resultados médios de sódio, cálcio e potássio ao longo das fases operacionais dos Reatores A e B.	84
Tabela 5.13: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total, AOV e nitrogênio amoniacal nos Reatores A e B na Fase I.	85
Tabela 5.14: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total, AOV e nitrogênio amoniacal nos Reatores A e B na Fase II.	85
Tabela 5.15: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total, AOV e nitrogênio amoniacal nos Reatores A e B na Fase III.	86
Tabela 5.16: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total, AOV e nitrogênio amoniacal nos Reatores A e B na Fase IV.	86
Tabela 5.17: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total, AOV e nitrogênio amoniacal nos Reatores A e B na Fase V.	87
Tabela 5.18: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total e AOV nos Reatores A e B na Fase VI.	87
Tabela 5.19: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total e AOV nos Reatores A e B na Fase VII.	88
Tabela 5.20: Geração média de nitrogênio amoniacal (mg N-NH_4/L) nos Reatores A e	88

B da Fase I até a Fase V.
Tabela 5.21: Geração média de alcalinidade e relação entre a alcalinidade intermediária e parcial (AI/AP) ao longo das fases operacionais dos Reatores A e B. 91
Tabela 5.22: Consumo médio de ácidos orgânicos voláteis nos Reatores A e B da Fase I até a Fase VII. 92
Tabela 5.23: Detalhamento dos efeitos dos padrões de toxicidade nos microrganismos em função do tempo de exposição. 101
Tabela 5.24: Valores encontrados com a ANOVA. 103
Tabela 5.25: Porcentagem de degradação aeróbia. 107
Tabela 5.26: Porcentagem de degradação aeróbia. 108
Tabela 5.27: Caracterização dos sólidos na manta de lodo do Reator A (final da fase). 111
Tabela 5.28: Caracterização dos sólidos na manta de lodo do Reator B (final da fase). 111
Tabela 5.29: Semelhanças com as morfologias dos microrganismos presentes no Reator A ao longo das fases. 113
Tabela 5.30: Semelhanças com as morfologias dos microrganismos presentes no Reator B ao longo das fases. 113
Tabela 5.31: Principais grupos de arqueias metanogênicas encontrados em sistemas de tratamento anaeróbio. 116

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AME: Atividade Metanogênica Específica Máxima
ANP: Agência Nacional de Petróleo
AOV: Ácidos orgânicos voláteis
AP: Água de produção de petróleo
API: American Petroleum Institute (Instituto de Petróleo Americano)
BTEX: Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (orto, meta e para)
CL50: Concentração letal responsável pela morte de 50% dos indivíduos
CONAMA: Conselho Nacional de Meio Ambiente
DAPI: 4', 6-diamidino-2-fenil indol (corante fluorescente específico ao DNA)
DQO: Demanda química de oxigênio
EPA: Environmental Protection Agency (Agência de Proteção Ambiental Americana)
ES: Esgoto sanitário sintético
ETE: Estação de tratamento de efluentes
HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência
LACE: Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia do Departamento de Oceanografia da UFPE
LSA: Laboratório de Saneamento Ambiental da UFPE
pH: Potencial hidrogeniônico
SPE: Extração em fase sólida
SPEC: Substâncias poliméricas extracelulares
SPME: microextração em fase sólida
ST: Sólidos totais
STF: Sólidos totais fixos
STV: Sólidos totais voláteis
TDH: Tempo de detenção hidráulica
TOG: Teor de óleos e graxas
UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket (Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo)
UFPE: Universidade Federal de Pernambuco
UN-SEAL: Unidade de Processamento de Petróleo Sergipe-Alagoas
UPS: Unidade Padrão de Salinidade

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	VIII
ABSTRACT	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABELAS	XI
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	XIII
1- INTRODUÇÃO	01
2- OBJETIVOS	03
2.1- Objetivo geral	03
2.2- Objetivos específicos	03
3- REVISÃO DE LITERATURA	04
3.1- Água de produção de petróleo (AP)	04
3.1.1- Composição	05
3.1.2- Legislação	10
3.2- Hidrocarbonetos do petróleo	11
3.3- Tipos de tratamento para a AP	13
3.3.1- Tratamentos aeróbios	16
3.3.2- Tratamentos anaeróbios	18
3.4- Toxicidade por cátions em meio anaeróbio	21
3.5- Efeito da salinidade em culturas convencionais	25
3.6- Microrganismos que crescem na presença de sal	26
3.7- Cátions antagonizantes os efeitos tóxicos do sódio	27
3.8- Ecotoxicidade da água de produção causada aos organismos marinhos	29
4- METODOLOGIA	32
4.1- Caracterização da água de produção de petróleo	32
4.1.1- Caracterização físico-química e cromatográfica	32
4.1.2- Testes de ecotoxicidade	37
4.1.3- Testes de atividade metanogênica específica máxima (AME) e de biodegradação anaeróbia	39
4.2- Experimento com reatores anaeróbios tipo UASB	43
4.2.1- Reatores tipo UASB	43
4.2.2- Inóculo	44
4.2.3- Esgoto sanitário sintético	45
4.2.4- Fases operacionais	46
4.2.5- Análise estatística	47
4.3- Testes de biodegradação aeróbia	49
4.4- Acompanhamento da biomassa e da mudança da morfologia na manta de lodo dos reatores UASB ao longo das fases operacionais	50
5- RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1- Caracterização	52
5.1.1- Área de estudo	52
5.1.2- Água de produção de petróleo	55
5.1.3- Testes de ecotoxicidade	67
5.1.4- Testes de AME e de biodegradação anaeróbia	74
5.2- Experimentos com reatores anaeróbios tipo UASB	79
5.2.1- Análise estatística	103
5.3- Testes complementares	104

5.3.1- Testes de AME e de biodegradação anaeróbia 105
5.3.2- Testes de biodegradação aeróbia 107
5.4- Acompanhamento da biomassa e mudança da morfologia na manta de lodo contida nos reatores tipo UASB ao longo das fases operacionais 110
6- CONCLUSÕES 124
7- SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS 125
REFERÊNCIAS 126
APÊNDICE 135

1- INTRODUÇÃO

Durante a exploração de petróleo e gás é gerada uma quantidade significativa de água, que pode ser denominada como água de produção, água de formação ou água associada ao petróleo. Este efluente, produzido em operações *onshore* (em terra) e *offshore* (no mar), é gerado em grandes volumes, geralmente com alto teor de cloretos. A elevada salinidade pode causar variados problemas à unidade, como corrosão e incrustações nas tubulações e dutos (SILVA, et al., 2005).

Os componentes básicos da água de produção de petróleo (AP) são os óleos, metais pesados, sais, produtos químicos, aditivos, compostos radioativos, sólidos e gases dissolvidos (PLACE, 1991). A fração insolúvel é composta por hidrocarbonetos alifáticos, aromáticos e cíclicos de alto peso molecular (MENZIE, 1982). A quantidade de água de produção gerada varia de acordo com a idade do poço explorado. Um campo novo produz pouca água, em torno de 5 a 15% da vazão produzida. Entretanto, à medida que a vida econômica dos poços vai se esgotando, o volume de água pode aumentar significativamente (ALI et al., 1998; HEIDER et al., 1999; THOMAS, 2001).

Esses fatores trazem problemas à unidade produtora e interesse em tratar e conhecer a AP, de forma a poder descartá-lo com segurança no meio ambiente. O descarte pode ser diretamente nos corpos hídricos ou a água de produção de petróleo pode ser re-injetada nos próprios poços produtores. Mesmo para ser re-injetada é necessário tratamento, pois a remoção de contaminantes e carga orgânica assegura maior vida útil aos poços e menores problemas nas unidades; além de diminuir o risco de obstrução da porosidade do subsolo e contaminação do lençol freático.

A primeira forma de tratamento da AP em uma unidade de produção é a separação entre a água e o petróleo, seguida por sistemas de flotação, com posterior tratamento biológico. Mesmo com tecnologias para a máxima separação e para um melhor aproveitamento do óleo extraído, a água restante ainda é rica em poluentes, implicando em efeitos nocivos ao meio ambiente, se esta for descartada inadequadamente.

No tocante ao tratamento biológico, a aplicação de reatores anaeróbios não tem sido muito reportada na literatura. Pois, efluentes com alta salinidade, como a água de produção, são de difícil tratamento devido à toxicidade conferida pelo excesso de sódio. Estudos que relatam trabalhos com efluentes sintéticos, no quais é possível controlar a

interação dos íons em solução, são comuns (DINCER e KARGI, 2001; GALLAGHER, 2001; OLMO, 2005). Porém, poucas pesquisas tratam sobre a viabilidade e limitantes da tecnologia anaeróbia usando água de produção *in natura* (GALLAGHER, 2001; RICÓN, et al., 2002; VIEIRA, et al., 2004; JI, et al., 2009). E, além disso, essas pesquisas relatam diferentes condições de estudo, como tipo de inóculo, configurações do tratamento e características físico-químicas da AP, levando a diferentes resultados.

Já que a salinidade predomina como limitante ao uso da tecnologia anaeróbia para tratar AP, uma alternativa para minimizar o efeito do sódio seria a utilização de antagonizantes (potássio, cálcio e magnésio), que apresentam bons resultados na melhoria de eficiência da remoção de poluentes (OLMO, 2005; BASHARAT et al., 2004[a,b]). A diluição também pode ser uma opção para melhorar a tratabilidade de efluentes salinos, pois diminui a concentração inicial de sódio, favorecendo a aplicação de reatores biológicos; já que a biomassa tende a responder bem a uma adaptação gradativa aos níveis de sal.

Levando em consideração as vantagens do reator anaeróbio tipo UASB (sistema compacto, com baixo custo e de fácil operação) essa pesquisa teve o intuito principal de avaliar a viabilidade do tratamento anaeróbio de água de produção de petróleo altamente salina, diluída em esgoto sanitário, nesse tipo de reator e inoculado com biomassa não adaptada. Adicionalmente essa pesquisa também avaliou a influência do uso do íon potássio como antagonizante ao efeito tóxico do sódio; o comportamento da AP em meio aeróbio, antes e após o tratamento anaeróbio; e a sua toxicidade ao organismo marinho *Tisbe biminienses*.

2- OBJETIVOS

2.1- Objetivo Geral

Avaliar a viabilidade do tratamento biológico anaeróbio de água de produção de petróleo com alta salinidade, através de reator tipo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket).

2.2- Objetivos Específicos

1. Verificar o efeito da adição do íon potássio (K^+) como antagonizante ao sódio (Na^+), na diminuição do efeito inibitório da salinidade da água de produção de petróleo, sobre as bactérias anaeróbias;

2. Avaliar o efeito da redução de carga orgânica, da mudança de co-substrato e da adição complementar de nutrientes sobre o desempenho do sistema;

3. Avaliar a tratabilidade aeróbia da água de produção de petróleo antes e após o tratamento anaeróbio;

4. Acompanhar a mudança de morfologia da biomassa microbiana ao longo das fases operacionais, com aumento gradativo da salinidade, por meio de técnicas de microscopia ótica.

3- REVISÃO DE LITERATURA

Este capítulo apresenta uma revisão bibliográfica sobre água de produção de petróleo, seus constituintes, destinação e formas de tratamento; além de ilustrar a composição físico-química de APs oriundas de diferentes bacias. Nesse capítulo ainda são enfocados os tipos de tratamento físico-químicos e principalmente os biológicos, empregados na remoção de matéria orgânica de efluentes salinos e oriundos da cadeia produtiva do petróleo. Em complemento, mostra-se o comportamento de culturas convencionais expostas à salinidade e os microrganismos mais comuns que crescem na presença de sais. As formas de antagonizar os efeitos da salinidade também são citadas. Por fim, o capítulo também faz menção à toxicidade da AP aos organismos marinhos.

3.1- Água de produção de petróleo (AP)

A água de produção de petróleo (AP) é o maior subproduto (rejeito) na produção de óleo e gás. A AP consiste de água de formação (água naturalmente presente na formação geológica do reservatório de petróleo) e a água de injeção (água injetada no reservatório para aumento da produção). Portanto, a água produzida (ou de produção) é a água trapeada em sub-superfície e entranhada na formação rochosa do reservatório (OGP, 2005). Sendo assim, destaca-se que a sua composição química é fortemente dependente do campo gerador do óleo. Essa água também pode receber as seguintes denominações: água de formação, água associada ao petróleo ou efluente salino.

Na legislação brasileira a resolução CONAMA nº 393/2007, que dispõe sobre o descarte contínuo de água de processo ou de produção em plataformas marítimas de petróleo e gás natural, define no seu 2° artigo, a água de produção de petróleo como sendo a água normalmente produzida junto com o petróleo, doravante denominada "água produzida".

A geração da AP é feita em grandes volumes e por geralmente possuir alto teor de cloretos não possui valor comercial e ainda causa variados problemas na unidade, como corrosão e incrustações nas tubulações e dutos. Castro et al. (2007) em seu trabalho citam que a alta salinidade da AP estudada já está prejudicando as bombas e equipamentos da UN-SEAL.

A AP geralmente é re-injetada nos poços de extração sem nenhum tratamento, tornando-se um rejeito perigoso ao meio ambiente, pois a injeção de águas com um teor de óleos e graxas superior a 5 mg/L pode provocar o tamponamento da rocha, obstruindo os poros e reduzindo, ou até mesmo anulando a produção do poço, além de danificar equipamentos (HANSEN e DAVIES, 1994). Essa re-injeção da AP pode causar diversos problemas, e em reservatórios de água profunda e poços de alta pressão ela é mais complicada e custosa.

A quantidade de AP gerada aumenta consideravelmente com a idade do poço e pode variar de 0,6 L água de produção por litro de petróleo produzido (SAUER, 1981) e até exceder em 10 vezes o volume de óleo produzido (RIBEIRO, 1995). Em muitas áreas *onshore* (em terra), ao redor do mundo, a água de produção é injetada em formações subterrâneas que contêm águas impróprias ao consumo humano. Em outras áreas *onshore* e *offshore* (no mar), a água de produção é descartada diretamente no meio ambiente, podendo causar danos à flora e à fauna da região. A quantidade de AP gerada depende da tecnologia de extração utilizada, das características do reservatório e da taxa de extração do óleo (CAMPOS et. al., 2002).

Plataformas de gás tendem a produzir menor volume de água, porém com concentrações relativamente altas de poluentes orgânicos. Plataformas de óleo, ao contrário, geralmente produzem altos volumes de água (OGP, 2005).

3.1.1- Composição

Com relação à constituição química, a água de produção de petróleo é um resíduo formado por vários compostos orgânicos e que podem ser identificados como: hidrocarbonetos alifáticos (alcanos, alcenos e cíclicos); hidrocarbonetos aromáticos (BTEX); asfaltenos (fenóis, ácidos graxos, cetanos, ésteres e etc.); resinas e compostos polares (piridina, quinolinas, carbazóleos, amidas, tiofeno e etc.) (SEABRA, 2001).
Segundo Freire (1999), a água de produção é caracterizada como uma salmoura, devido à salinidade elevada. A quantidade de sais minerais dissolvidos na AP pode variar numa faixa de 10 a 300.000 mg/L.

A AP apresenta como principais classes de compostos orgânicos os hidrocarbonetos voláteis (BTEX), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), fenóis, e ácidos carboxílicos. Os HPAs constituem-se numa importante classe devido à sua toxicidade e por apresentar compostos considerados carcinogênicos (NEFF, 2002).

Segundo a Sociedade Internacional dos Produtores de Petróleo e Gás - OGP (2005), os constituintes orgânicos da AP podem ser distribuídos em 3 categorias: hidrocarbonetos dissolvidos em água; hidrocarbonetos dispersos (que podem estar somados aos produtos hidrofóbicos ou surfactantes utilizados no tratamento do efluente ou na separação água-óleo); e os compostos orgânicos dissolvidos (não hidrocarbonetos), como é o caso dos fenóis e ácidos (OGP, 2005). Na categoria dos compostos dispersos estão incluídos os parâmetros: óleos e graxas, hidrocarbonetos totais de petróleo, hidrocarbonetos alifáticos (n-alcanos) e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Na categoria dos hidrocarbonetos dissolvidos estão incluídos os hidrocarbonetos monoaromáticos voláteis: benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX). Na categoria dos compostos orgânicos dissolvidos (não hidrocarbonetos) os fenóis totais possuem maior relevância sob o aspecto ambiental, devido à preocupação quanto aos possíveis efeitos tóxicos destes compostos.

Os pesquisadores Oliveira e Oliveira, (2000) também citaram que os compostos dissolvidos na AP podiam ser orgânicos, inorgânicos ou oriundos de produtos químicos. Os pesquisadores dividiram os compostos orgânicos naturais, presentes nas águas de produção em quatro grupos principais: alifáticos (incluindo os naftênicos), aromáticos, polares e ácidos graxos. A quantidade relativa e a distribuição de massa molecular destes compostos variam de poço para poço. Compostos aromáticos, tais como: benzeno, tolueno, xileno e naftalenos, são relativamente solúveis na água, estando ainda presentes em pequenas quantidades de HPAs de alta massa molecular. Os compostos aromáticos, juntamente com os alifáticos, constituem os chamados hidrocarbonetos da AP. Os compostos polares, como os fenóis, também são relativamente solúveis na água. Todavia, como estes compostos estão presentes em pequenas quantidades no petróleo, sua concentração na AP é menor do que a dos compostos aromáticos. Os compostos inorgânicos normalmente detectados são cátions (Na^{+}, K^{+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Ba^{2+}, Sr^{2+}, Fe^{2+}, etc.) e ânions como Cl^{-}, SO_4^{2-}, CO_3^{2-}, HCO_3^{-}, etc., sendo responsáveis pelo potencial de incrustação dessas águas. Além desses íons, essas águas também contêm traços de vários metais pesados (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2000).

Os autores OGP (2005) e UTVIK (1999) indicaram que não há correlação entre o teor de óleo e graxas, que atualmente é o parâmetro ambiental regulador, com o teor de compostos aromáticos da AP. Woodall et al. (2001) também destacaram que a qualidade da AP depende do método de recuperação, e que a maioria é caracterizada por

um teor elevado de hidrocarbonetos de petróleo, alta salinidade, metais pesados, radionuclídeos, e produtos químicos dos campos petrolíferos.

Em campos *offshore* a água do mar é injetada no interior do reservatório para manter a pressão para o transporte do óleo, então ocorre a mistura da água do mar e a água de formação. Uma vez que a AP normalmente possui alta concentração de sais e pH menor que o da água do mar, o equilíbrio químico é alterado com consequente precipitação de sulfatos e carbonatos (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2000).

No tipo produção de petróleo *offshore*, as águas são descarregadas diretamente no mar ou re-injetadas. As diferentes concentrações de cátions, como Na^{+}, K^{+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Ba^{2+}, Fe^{2+}, entre outros, e ânions, como Cl^{-}, SO_4^{2-}, CO_3^{2-}, HCO_3^{-}, etc, são responsáveis pelo potencial de incrustação destas águas. A composição salina deste efluente é formada predominantemente por cloreto de sódio (80%) (TELLEZ et. al., 2002). Além desses íons, a AP também contêm traços de metais pesados (CASTRO et al., 2007).

A AP contém os mesmos sais e metais que a água do mar, embora em razões e concentrações diferentes. Sendo que essas razões refletem a idade da formação geológica (OGP, 2005). Dentre os metais a composição é variável, mas frequentemente os elementos majoritários são o bário e o ferro (OGP, 2005; E&P FORUM, 1994; UTVIK, 1999).

Geralmente, águas de campos produtores de gás são mais tóxicas do que campos produtores de óleo, devido ao alto conteúdo de hidrocarbonetos de baixo peso molecular tais como BTEX. Porém, os pequenos volumes da AP por estes campos os tornam menos importantes considerando a quantidade total de compostos descartados quando os campos são produtores de óleo (PIMENTEL, 2005). Sua composição também muda de acordo com a região onde é encontrada, existindo assim um tipo de AP com características diferentes para cada local.

Como explicitado, devido a sua complexidade, as características da AP gerada, inclusive numa mesma bacia, podem variar bastante. Segundo a ANP (2008) a maior produção de petróleo no Brasil se situa na Bacia de Campos, no Rio de Janeiro (Brasil). Quatro autores (SANTOS et al., 1997; FREIRE, 1999; CAMPOS et al., 2002; e VIEIRA et al., 2004) que pesquisaram essa AP ilustram bem as variações da AP (Tabela 3.1).

Tabela 3.1: Resumo dos valores médios de alguns parâmetros da caracterização da AP realizada para a Bacia de Campos-RJ.

PARÂMETRO / FONTE	Santos et al. (1997)	Freire, (1999)	Campos et al. (2002)	Vieira et al. (2004)
pH	5,9	7,2	6,8	7,4
DQO (mg/L)	-	2.000	1.622	4.730
DBO (mg/L)		700	695	1.940
COT (mg/L)	68,8	450	386	1.468
Fenóis (mg/L)	-	2,7	4,3	1,9
TOG (mg/L)	51	100	220	49
Sulfatos (mg/L)	1	45	-	50
Cloretos (mg/L)	-	49.500	45.380	-
Amônia (mg/L)	-	150	-	260
Fenóis Totais (mg/L)	-	2,7	4,3	1,9
Sólidos Totais (mg/L)	-	-	80.640	76.063

O teor de cloretos, DQO, DBO e COT é citado em valores próximos por Freire, (1999) e por Campos et al. (2002), mas não pelos outros autores. O pH variou de 5,9 em Santos et al. (1997) até 7,4 no trabalho de Vieira et al. (2004). A DQO e o COT também teve os maiores valores (4.730 mg/L e 1.468 mg/L, respectivamente) na pesquisa de Vieira et al. (2004).

Na unidade de pesquisa (UN-SEAL), Santos (2006) realizou uma caracterização da água de produção, porém no referido trabalho o autor cita que a AP foi obtida a partir da saída do vaso trifásico dos tratadores termoquímicos, usado da planta de tratamento da Unidade. Mesmo assim não pode-se inferir maiores comparações com a amostra em estudo. Castro et al. (2007), a pedido da Petrobras, trabalhando na também na Unidade de pesquisa realizou uma caracterização da AP em julho de 2007, nesse caso os autores analisaram o ponto de coleta usado para essa pesquisa (na saída dos tratadores termoquímicos - P_1), além de outros dois pontos (após o manifold e na saída dos separadores de produção). Todos esses resultados encontram-se na Tabela 3.2.

Tabela 3.2: Composição média da AP de Pilar-Alagoas em diversos pontos do Ativo.

PARÂMETRO / FONTE	Santos, (2006) (saída do vaso trifásico dos tratadores termoquímicos)	Castro et al. (2007) (saída dos tratadores termoquímicos -P $_1$)	Castro et al. (2007) (saída do Manifold)	Castro et al. (2007) (saída dos separadores de produção)
TOG (mg/L)	85	-	-	-
Sólidos Suspensos (mg/L)	278,4	-	-	-
DQO (mg/L)	2.067	-	-	-
Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	100	-	-	-
Sulfetos (mg/L)	33,3	-	-	-
Fenóis (mg/L)	1,8	-	-	-
Cloretos (mg/L)	47.653	106.000	78.800	135.000
Ferro (mg/L)	0,56	48	38	58
Sólidos Dissolvidos Totais(mg/L)	79	-	-	-
pH	7,0	5,8	6,1	5,6
Salinidade (mg/L)	-	174.908	130.026	222.760
Na^+ (mg/L)	-	48.170	39.225	59.125
Ca^{2+} (mg/L)	-	12.993	10.215	18.226
K^+ (mg/L)	-	2.084	1.285	2.212
Mg^{2+} (mg/L)	-	1.375	1.351	1.649
Bário (mg/L)	n.d	65	51	102
Sulfato (mg/L)	-	58	62	60
Brometo (mg/L)	-	866	616	1216
Bicarbonato (mg/L)	-	141	199	151
Estrôncio	-	448	328	684

Ratificando a grande variação das características físico-químicas da AP no Brasil, na Tabela 3.3 constam os dados de alguns trabalhos encontrados na literatura para as águas de produção oriundas dos estados de Sergipe e Ceará. Porém, deve-se enfatizar que a qualidade dos dados não é conhecida, devido à falta de informação nos artigos quanto às técnicas analíticas utilizadas para obtenção das concentrações e o local de coleta dentro da estação de tratamento. A comparação entre os dados das bacias deve ser feita apenas no intuito de se ter uma estimativa da magnitude das concentrações, pois nem em todos os trabalhos os métodos utilizados são citados.

As Tabelas 3.1, 3.2 e 3.3 vêm ilustrar a grande variabilidade de características das APs, tanto na mesma bacia (3.1), quando em bacias diferentes (3.2 e 3.3).

Tabela 3.3: Composição média da AP em campos *onshore* de Sergipe, *offshore* do Ceará.

PARÂMETRO / FONTE	Vieira et al. (2003)	Dórea et al. (2007)	Gabardo et al. (2005)
	Carmópolis – SE		Curimã-CE
pH	6,7	-	8,7
DQO (mg/L)	790	-	-
COT (mg/L)	181	-	-
Benzeno (mg/L)	-	1,40	10,1
Tolueno (mg/L)	-	1,20	5,7
Etilbenzeno (mg/L)	-	0,20	0,4
Xilenos (mg/L)	-	0,30	1,1
Naftalenos (mg/L)	-	0,01	-
TOG (mg/L)	79	-	24,3
Fenóis Totais (mg/L)	0,25	-	2,0
Cloretos (mg/L)	9.323	-	-
Salinidade (mg/L)	-	36.400	77.400
Sólidos Totais (mg/L)	18.444	-	-
Sólidos Suspensos Totais (mg/L)	332	-	199
Sólidos Dissolvidos Totais (mg/L)	18.112	-	86.000
Sulfeto (mg/L)	12	-	0,1-3,3
Amônia (mg/L)	18	-	45
Cobre (mg/L)	0,28	0,001	-
Ferro (mg/L)	173	4.540	5,9-17
Bário (mg/L)	82	-	0,4-23,0
K^+	-	4.000	-
Na^+	-	9.200	-
Dureza	-	5.010	-

Em suma, os riscos ambientais associados à água de produção de petróleo podem variar em função da sua composição, características do local e como ocorre a sua disposição final. Então, para a correta compreensão e solução desse problema faz-se necessário conhecer bem os seus constituintes.

3.1.2- Legislação

As águas de produção são geradas tanto em operações onshore quanto em offshore e quando chegam à superfície são separadas dos hidrocarbonetos para a remoção da maior quantidade de óleo possível, e então são descarregadas no mar ou re-injetadas nos poços, se as suas condições estiverem adequadas. Como a composição química é complexa e o volume gerado é muito grande, os órgãos de preservação ambiental aumentaram o controle em relação ao descarte destas águas e estabeleceram

padrões de concentração menores para os poluentes presentes nesse efluente. Em áreas *onshore* ao redor do mundo a água é descartada em reservatórios superficiais para evaporação e/ou re-injetada em poços desativados. Este procedimento representa uma séria ameaça ao meio ambiente, podendo inclusive, contaminar as águas subterrâneas (FREIRE, 1999).

A disposição direta, isto é, sem nenhum tratamento, da água de produção na água do mar, em muitos casos, afeta o ecossistema marinho, por esta razão, diversos países estabeleceram um limite máximo para o teor de óleo da água descarregada. Nos Estados Unidos, a EPA (Environmental Protection Agency) regulamenta que a descarga de AP, em mar aberto, deve conter uma concentração de óleos e graxas menor que 29 mg/L (média mensal) e 42 mg/L (máxima diária). No Brasil, as exigências legais a serem cumpridas são estabelecidas pela resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), através da Resolução nº 393 de 2007, que dispõe sobre o descarte contínuo de água de processo ou de produção em plataformas marítimas de petróleo e gás natural. Em concordância com a regulamentação do EPA, a Resolução CONAMA 393/2007, em seu artigo 5 cita que o descarte de AP deverá obedecer à concentração média aritmética simples mensal de óleos e graxas de até 29 mg/L, com valor máximo diário de 42 mg/L.

Dentro da CONAMA 393/2007 a importância de conhecer a toxicidade da AP é instituída no artigo 10, onde é citado que as empresas operadoras de plataformas deverão realizar o monitoramento semestral da AP a ser descartada das plataformas, para fins de identificação da presença e concentração da toxicidade crônica da AP, através de método ecotoxicológico padronizado com organismos marinhos.

3.2- Hidrocarbonetos do petróleo

Os hidrocarbonetos encontrados no petróleo podem ser divididos em: hidrocarbonetos alifáticos (alcanos, alcenos e cíclicos); hidrocarbonetos aromáticos (benzeno, tolueno, xilenos e etilbenzeno-compostos BTEX, dentre outros); hidrocarbonetos poliaromáticos e policíclicos (HPAs): naftaleno, antraceno, fenantreno, etc.); asfaltenos (fenóis, ácidos graxos, cetanos, ésteres, etc.); resinas; e compostos polares (piridina, quinolinas, carbazóleo, amidas, tiofeno, etc.). Esses hidrocarbonetos são em sua maioria biodegradados por culturas microbianas mistas, de maneira simultânea, mas em diferentes taxas. A presença de um dado hidrocarboneto em uma

mistura, como substrato, pode ter influência positiva (pelo processo de cometabolização) ou negativa (pela toxicidade) na biodegradação dessa mistura (SEABRA, 2001).

Ururahy (1998) cita que normalmente é adotada a seguinte ordem decrescente de susceptibilidade ao ataque microbiano: n-alcanos > alcanos ramificados > aromáticos de baixa massa molecular > cicloalcanos > poliaromáticos > compostos polares. Porém existem algumas exceções, as quais resultam de ações cometabólicas.

As vias metabólicas utilizadas para a degradação dos compostos existentes no petróleo têm sido largamente estudadas. Há uma grande diversidade taxonômica de organismos, na maioria mesofílicos, capazes de degradar hidrocarbonetos, utilizando-os como única fonte de energia e carbono (ATLAS, 1981).

A extensão da maioria dos óleos e misturas complexas de hidrocarbonetos que são degradados anaerobicamente é comparável àquela tipicamente associada com o metabolismo aeróbio, embora os organismos e metabolismos bioquímicos que os microrganismos anaeróbios empregam sejam fundamentalmente diferentes dos aeróbios (SUFLITA, 2000).

Embora os hidrocarbonetos sejam recalcitrantes no meio ambiente, seu desaparecimento pode ocorrer através de uma grande variedade de processos, sendo o principal deles a biodegradação, que é inversamente proporcional ao número de anéis na molécula benzênica. No entanto, a maioria dos compostos contendo mais que três anéis benzênicos é resistente ao ataque microbiano e por isso persistem no meio ambiente. Quando presentes em misturas, os hidrocarbonetos aromáticos são mais facilmente degradados do que fornecidos individualmente, porém pouco se sabe sobre o efeito da interação desses substratos sobre a sua biodegradação (BARBIERI, 1997).

Os compostos BTEX são altamente poluentes e apresentam toxicidade elevada. Dentre os principais problemas relacionados à toxicidade estão a irritação das membranas mucosas, dores de cabeça, náuseas, dermatites, coma e dificuldade de desenvolvimento de fetos humanos (NARDI, 2002).

Os principais HPAs recomendados pela EPA e considerados prioritários para o monitoramento biológico são o naftaleno, antraceno, pireno, criseno, fenantreno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(g,h,i) perileno, acenafteno, acenafileno, fluoreno, fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(b)fluoranteno, indeno(1,2,3–c,d)pireno. O aumento da recalcitrância se dá na

ordem crescente: naftaleno, acenafteno, antraceno, fenantreno, fluranteno, pireno, benzantraceno e benzopireno (CERNIGLIA, 1992).

Existem poucos trabalhos na literatura referenciando a biodegradação anaeróbia de HPAs, porém, Field (2001), em sua revisão sobre as limitações da biodegradação anaeróbia, cita uma tabela com artigos sobre as evidências da biodegradação de HPAs em meio anaeróbio, com os aceptores de elétrons, o tipo da cultura usada, os compostos de HPAs degradados e a respectiva referência bibliográfica.

3.3- Tipos de tratamento para a AP

Geralmente, a salinidade e o teor de óleo presente nas águas de produção são os fatores determinantes para a escolha do(s) processo(s) de tratamento e do local de descarte do efluente tratado. Os produtos adicionados durante a produção do petróleo são, em muitos casos, agentes complicadores para o tratamento destas águas. Todos os processos considerados como de potencial aplicação para o tratamento de AP geram subprodutos que necessitam de posterior manuseio ou descarte (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2000).

Apesar do descarte de grandes volumes de AP já existir a muito tempo, apenas recentemente foram intensificados os estudos para avaliação dos riscos que poderiam estar sendo gerados para as comunidades aquáticas presentes no corpo receptor (GABARDO, 2007). A opção mais utilizada para a disposição da AP seria sua re-injeção. Porém, quando esse processo é feito sem tratamento, vários problemas são detectados. A injeção de água no reservatório para manter a pressão e auxiliar o fluxo do petróleo para a superfície é então um processo comum. A água a ser injetada na rocha pode ser doce, salgada ou aquela produzida juntamente com o óleo depois de separada. Seja qual for o tipo de água injetada no reservatório, ela é tratada para garantir que não ocorra entupimento dos poros da rocha, dificultando a migração do óleo para os poços (CURBELO, 2002).

No trabalho de Silva (2000) são citadas as opções potenciais para a disposição ou reciclagem da AP, que são basicamente a disposição no solo e em rios; uso na irrigação; tratamento para ser usada como água potável; descarte no mar; descarte no subsolo; e como água de injeção. Sendo que a injeção revela-se como uma das mais eficazes, pois é utilizada em processo de recuperação adicional de óleo, com a injeção da AP no horizonte de onde foi retirada. O risco ambiental preocupante, com essas manobras, é a

contaminação de aqüíferos. Porém, mediante a utilização correta de revestimentos para os poços injetores, minimiza-se a possibilidade de contaminação. A água de injeção, ao ser comprimida no horizonte produtor, através dos poços injetores, tende a aumentar ou manter a geração de uma determinada zona produtora. Esse objetivo é atingido por meio da manutenção da pressão ou por deslocamento do petróleo, na direção dos poços produtores. Ao ser injetada na zona produtora, a AP deve ser a mais inerte possível, de modo a evitar danos ao reservatório. A injeção de água com salinidade inferior à original, em formações argilosas, pode levar à restrição, ao fluxo e à perda da injetividade no local. A presença de impurezas também pode levar à obstrução mecânica do local de injeção. Esses danos podem comprometer a própria injeção e o processo de recuperação projetado. Poderão ser necessários tratamentos para adequar, por exemplo, o teor de sólidos, óleo e salinidade da água às necessidades do reservatório em que a água será injetada. A injeção da AP pode ou não estar ligada a um processo de recuperação secundária. Em ambos os casos, pode haver necessidade de algum tratamento para adequar o fluido à legislação e/ou assegurar a injetividade do reservatório (SILVA, 2000).

Em resumo, mesmo a AP sendo totalmente re-injetada nos poços produtores, o seu tratamento, visando remover a maioria dos poluentes possíveis com menor custo, se faz necessário.

Oliveira e Oliveira, (2000) também destacam que os métodos de tratamento das águas de produção dependem de muitos fatores, incluindo os volumes envolvidos, a constituição da água, a localização do campo e os limites da legislação ambiental vigente. Para serem viáveis, as tecnologias de tratamento devem apresentar baixo custo operacional e elevada eficiência.

Os processos comumente mais utilizados são a flotação por ar dissolvido e/ou tratamento aeróbio. O processo de flotação e sedimentação com a utilização de coagulantes torna-se uma opção de tratamento. Assim, é possível a re-injeção nos poços do efluente tratado, já que o grande problema dessa prática, usando-se a AP *in natura* é a grande quantidade de partículas oleosas e sólidas em suspensão (SANTOS et. al, 2007).

Porém, Santos (2009), mesmo otimizando os parâmetros de tempo de rotação e dosagem de coagulante (Tanfloc SS) na flotação por ar dissolvido, em escala de bancada (AP de Pilar-Alagoas *in natura*) não obteve resultados satisfatórios de remoção de DQO (abaixo de 25%).

Hansen e Davies (1994) estudaram algumas tecnologias para o tratamento de AP originada em reservatórios de óleo e gás: troca iônica para a remoção de metais pesados, adsorção em zeólitas sintéticas, filtração em membrana, arraste por gás ou vapor, adsorção em carvão ativado (com a posterior regeneração deste carvão por oxidação com ar úmido) e tratamento biológico para remover a matéria orgânica dissolvida. No entanto, eles confirmaram que a maioria dos tratamentos estudados não foi suficientemente eficiente para remover os grupos de componentes perigosos presentes na AP.

Tecnologias como troca iônica, coagulação/floculação e precipitação eletroquímica, vêm sendo utilizadas para tratar águas de produção, apesar dos problemas de separação e descarte dos precipitados formados (Oliveira e Oliveira, 2000).

No trabalho de Pimentel, (2005) para APs provenientes de campos de petróleo do Rio Grande do Norte, foi avaliada a utilização do xisto retortado, pelo processo de adsorção para adequar a concentração dos metais pesados aos limites de descarte permitidos pela legislação brasileira. A aplicabilidade do xisto retortado foi demonstrada, onde o percentual de remoção na AP encontrado foi de aproximadamente 40 a 70% para Cr, Fe, Co, Ni, Cu e Zn e acima de 80% para Hg e Pb.

Dentre os diversos processos que podem ser empregados, Silva et al. (2005) pesquisaram processos oxidativos avançados (POAs) para a AP, na cidade de Pilar, Alagoas. Os autores concluíram que o processo era mais eficiente na ausência de ferro, conseguindo 85% de remoção de carbono após 12 horas; e que os processos de eletrólise apresentaram a mesma eficiência. Dentro da mesma linha de pesquisa, Santos, et al. (2006), também trabalharam com processos eletroquímicos para tratar a AP de Pilar-Alagoas, concluíram que os processos eletroquímicos foram eficientes para diminuir a DQO do resíduo. A máxima remoção foi conseguida com 50º C, atingindo 40% após 12 h, e 57% após 70 h. A redução da DQO foi atribuída à eletrooxidação / eletrodegradação e também à eletroflotação. Para esse tipo de tecnologia destaca-se o alto custo.

Com relação a novas tecnologias, Barbosa (2005) usando a AP da bacia de Campos/RJ buscou identificar bactérias formadoras de endósporo, associadas à planta *Blutaparon portulacoides* e verificar seu potencial uso no tratamento da AP. O experimento aeróbio apresentou altos índices de remoção de DQO, chegando até 70%.

Uma opção bem mais econômica seria o uso de tratamento biológico para a AP, porém as altas salinidades e os grandes volumes normalmente envolvidos limitam a sua utilização, o que vem levando ao maior interesse em avaliar o seu comportamento. O uso de reatores biológicos anaeróbios em efluentes gerados pela indústria de petróleo não apresentam tanta eficiência ou são pouco pesquisados, quando comparados aos resultados obtidos com efluentes sanitários.

Porém, sabe-se que o processo biológico pode ser protegido pela regulagem preliminar do fluxo do efluente, controle das cargas hidráulicas e orgânicas e pela redução dos óleos na forma livre ou emulsificada (REBHUN e GALIL, 1994).

3.3.1- Tratamentos aeróbios

No tratamento biológico aeróbio os microrganismos são induzidos a se alimentarem de substratos complexos, com a presença de oxigênio no meio, o material orgânico é mineralizado pelo oxidante para compostos inorgânicos, principalmente dióxido de carbono e água. Normalmente o processo aeróbio é mais rápido e biologicamente preferencial em relação ao processo anaeróbio porque requer menor energia de ativação e produz mais energia por reação. Porém, o processo anaeróbio tem como principal vantagem econômica não necessitar de adição de oxigênio, barateando em muito os custos operacionais, apesar de serem obtidas menores eficiências de remoção de DQO.

No tocante ao uso da tecnologia aeróbia para água de produção a literatura é vasta, alguns trabalhos mais relevantes com reatores aeróbios tratando água de produção são relatados em seguida.

Em 1996, Dalmacija et. al. implantaram um sistema para o tratamento de AP salina, utilizando como diferencial a adição de carvão ativado em pó (PAC). A natureza do poluente e a alta salinidade (2,9%) exerceram um efeito desfavorável no lodo ativado. Entretanto, a imobilização dos microrganismos no PAC, associada à diluição do efluente em água-doce (25% da AP) promoveram um aumento na taxa de degradação os poluentes.

Em sua pesquisa Kargi e Uygur, (1996) usaram reator tipo coluna de percolação aerada, com salinidade de 1 a 5% de NaCl, cultura composta. A eficiência de remoção de DQO foi de 75%. A partir de 3% de NaCl a cultura de *halobacter halobium* foi a responsável pela biodegradação.

No mesmo ano (1996), Kargi e Dincer trabalhando com um efluente sintético a base de melaço, uréia, fosfato de potássio e sulfato de magnésio, variando a concentração de NaCl de 1-5% usaram um reator aeróbio de batelada alimentada. A relação de DQO:N:P foi de 100:10:1. A cultura dominante foi cultivada em laboratório (*Zooglea ramigera*). O aumento da concentração de sal causou uma redução na remoção de DQO.

Freire (1999) utilizou tratamento biológico aeróbio através de um reator em batelada seqüencial (RBS) para AP do terminal de Cambiúnas, Rio de Janeiro. O autor usou água de produção diluída em esgoto doméstico na proporção de 10% com tempo de reciclo de 24 horas no reator, obtendo eficiência de remoção de DQO de 52%. A DQO do esgoto foi totalmente removida, com menor teor de cloretos e menor DQO da AP. A contribuição da DQO do esgoto foi mantida fixa e a da AP foi aumentando, no caso houve degradação dos compostos da AP de 23 a 41%.

Em 2001, Freire et. al. realizaram o tratamento biológico aeróbio da AP oriunda da Bacia de Campos, Rio de Janeiro. Foi utilizado reator em batelada seqüencial (SBR) para o tratamento da AP, diluída em diferentes porcentagens, com esgoto doméstico. As remoções de fenóis, amônia e DQO foram monitoradas para cada uma das diluições. A remoção de amônia e fenóis não variou com as diluições, atingindo valores médios de 95% e 65%, respectivamente. A remoção de DQO alcançou as remoções de 30% e 50%, para as diluições de 45% e 35%.

Campos et. al. (2002) implantaram um sistema de tratamento de AP salina da Bacia de Campos-RJ, combinando um processo físico-químico, microfiltração com membrana de éster de celulose misturada (MCE), com um processo biológico em reator *air-lift* contendo partículas de poliestireno. Com a microfiltração, houve a remoção de DQO, COT, óleos e graxas e fenóis em 35%, 25%, 92% e 35%, respectivamente. O permeado gerado alimentou o biorreator que obteve uma eficiência de remoção de 65% para DQO, 80% para COT, 65% para fenóis e 40% para amônia.

Tellez et. al. (2002) desenvolveram um sistema de campo para o tratamento de AP, utilizando microrganismos próprios do efluente salino. Após a passagem pelo separador gás/óleo, a AP era levada a um *skimmer*, onde era retirada parte dos hidrocarbonetos residuais. Posteriormente, na unidade de lodos ativados, a AP sofria a ação degradadora dos microrganismos já aclimatados. Com o uso deste processo, foi removido 99% dos hidrocarbonetos totais de petróleo presentes no efluente.

Vendramel et al. (2005) usaram reator submerso aeróbio de leito fixo para tratar a AP da refinaria de Manguinhos (estado do Rio de Janeiro). O reator operou por 254 dias e a AP foi suplementada com fósforo e nitrogênio para manter a razão de DQO:N:P de 100:5:1. Ao final do experimento, com carga orgânica de 2,36 kg $DQO.m^{-3}.d^{-1}$ e TDH de 12 horas, a eficiência de remoção de DQO foi de 75%.

Na pesquisa de Lu et al. (2009) os pesquisadores usaram acidificação e hidrólise e um sistema de bio-oxidação de contato para tratar AP com salinidade de 24.350 mg Cl^-/L. O sistema tinha a seguinte composição em seqüência: um tanque de sedimentação, um anóxido, outro de sedimentação, dois aeróbios e um último de sedimentação. Com três meses de operação, TDH de 32 h e uma carga volumétrica de 0,28 kg DQO $m^3.d^{-1}$, o tratamento alcançou eficiências de remoção média de 63,5% para DQO, 79,5% para sólidos suspensos totais e 68,0% para hidrocarbonetos totais de petróleo. O pH médio de entrada (5,8) e a temperatura (52 ºC) precisaram ser ajustados, para 7 e cerca de 30 ºC, respectivamente, também foi acrescida uma fonte de fósforo para manter a relação de DQO:N:P em 100:5:1. Os tanques aeróbios foram inoculados com uma cultura mista de microrganismos isolados de petróleo de solo contaminado e o lodo anaeróbio foi obtido a partir de uma ETE de refinaria.

Conclui-se então, que a degradação do petróleo, seus derivados, rejeitos e efluentes é conhecidamente mais estudada, mais rápida e abrange um número maior de compostos sob condições aeróbias. Porém, já se sabe que compostos recalcitrantes como benzeno, tolueno, xileno e etilbenzeno são degradados na ausência de oxigênio (HOLLINGER e ZEHNDER, 1996; HEIDER et al., 1999; WIDDEL e RABUS, 2001). E como já destacado, esses resultados associados às vantagens apresentadas pelos tratamentos biológicos anaeróbios, tais como: baixa produção de lodo, baixo consumo de energia, menor custo para sua implementação e operação, despertam o interesse sobre o conhecimento dessa tecnologia.

3.3.2- Tratamentos anaeróbios

Ainda são poucos os trabalhos na literatura utilizando apenas tecnologias anaeróbias para o tratamento de AP, apesar desta estar demonstrando ser extremamente promissora para diversos resíduos de origem petroquímica, despontado como inovadora, mas ainda pouco estudada. O efeito do sódio na digestão anaeróbia tem sido estudado extensivamente na literatura. Mas, os resultados publicados a respeito da concentração

máxima de sódio permitida são conflitantes. Rinzema et al. (1988) citam que diversos fatores, além das metodologias empregadas podem explicar essas divergências, tais como: efeitos antagônicos e sinergéticos (causado pela presença de outros cátions) e diferença na sensibilidade entre os microrganismos. Feijoo et al. (1995), concluíram que além dos fatores citados por Rinzema et al. (1998), a adaptação anterior do lodo e a baixa relação entre substrato e biomassa utilizada em ensaios contínuos podem interferir na concentração limite de sódio (Na^+) em sistemas anaeróbios.

Ocupando uma posição de destaque dentre os reatores anaeróbios utilizados no Brasil os do tipo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), criado na Holanda na década de 70, são comumente utilizados em indústrias onde os processos produtivos geram águas residuárias de difícil degradação, devido às suas características de retenção da biomassa, possibilidade de geração e reaproveitamento do biogás, facilidade de controle operacional e possibilidade de operação com elevadas concentrações de carga orgânica.

Os poucos trabalhos, destacados na literatura, utilizando vários tipos de reatores anaeróbios para efluentes salinos e água de produção são descritos em seguida.

Com um reator de filme fixo tratando AP sintética com alta salinidade (24,72 g/L) Gallagher, (2001) observou que apesar da baixa eficiência, o tratamento anaeróbio de acetato, tolueno e outros poluentes da AP seria possível.

Ricón et al. (2002) usaram um reator tipo UASB para tratar AP *in natura* na Venezuela. Um reator de 4 litros foi operado durante 275 dias e os parâmetros analisados foram DQO, pH, alcalinidade, fenóis totais, AGV, volume de biogás e concentração de metano no biogás. O tempo de detenção hidráulico (TDH) ótimo determinado foi de 15 horas, correspondendo a uma carga orgânica de 2 kg DQO/m^3.d, alcançando eficiência de remoção de DQO de 80% e de fenóis de 60%. Os autores não citam a salinidade da AP, inferindo-se assim, que essa deva ser baixa. São mostrados os valores de DQO e fenóis totais (de 800 até 1.489 mg/L e de 14,59 até 28,39 mg/L, respectivamente).

Utilizando um bioreator anaeróbio para tratar a AP de Carmópolis, estado de Sergipe, Vieira, et al. (2003), após 15 dias de operação conseguiram reduções de COT, óleos e graxas e fenóis totais de 20%, 55% e 57%, respectivamente. Os autores usaram um consórcio microbiano isolado da própria AP com predominância de bactérias redutoras de sulfato.

Vieira et al. (2004) avaliaram a eficiência do tratamento anaeróbio da AP com reator de bancada de 1,5L a 35ºC e 250 rpm. Foi utilizado um enriquecimento com bactérias redutoras de sulfato. Os percentuais de remoções foram de até 57% de DQO, 40 a 62% de óleos e graxas, e de 36 à 58% de fenóis totais, após 6 e 15 dias de tratamento.

Usando um efluente salino sintético em seu trabalho, Olmo (2005), fez uma combinação de potássio e cálcio, aumentando assim o antagonismo em relação ao potássio isoladamente, em concentrações de 10.350 mg/L, 400 mg/L e 200 mg/L para o sódio, potássio e cálcio, respectivamente. A pesquisa realizada mostrou o fenômeno do antagonismo secundário, ou seja, o cálcio foi capaz de antagonizar o sódio quando o potássio, antagonista primário, estava presente. Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que a degradação da matéria orgânica em reator tipo UASB passou a ser comprometida quando concentrações de NaCl foram superiores a 6.000 mg/L, produzindo efeito inibidor sobre o processo de digestão anaeróbia. As morfologias encontradas ao longo desse experimento foram cocos, víbrios, bacilos, sarcinas, além de morfologias semelhantes a *Methanosarcina* sp. e *Methanosaeta* sp. O aumento da concentração de cloreto de sódio provocou a redução da população de Arquéias.

Lefebvre et al. (2007) exemplificam como os níveis de tolerância ao sódio, em meio anaeróbio, são bem diferentes, a depender principalmente da natureza do substrato. No caso, testes anaeróbios com vinhaça e etanol mostraram tolerância de 10 a 60 g/L, respectivamente.

Ji et al. (2009), trabalharam com um reator compartimentado anaeróbio de 75L, com TDH de 60 horas, carga orgânica de 0,2 kgDQO/m^3.dia com AP de alta salinidade (1.15 a 1.46%) e poucos nutrientes DQO:N:P de 1200:15:1. A AP foi retirada depois do separador de água e óleo e do flotador. A média de remoção de DQO alcançada foi de 65%.

Mesmo com o uso de tecnologias combinadas (anóxica e aeróbia) a DQO residual da AP ainda é evidente e pouco se conhece sobre sua composição. Lu, et al. (2006), realizaram uma pesquisa onde foi analisada a composição química que contribuía para a DQO da água de produção, num sistema de tratamento de campos de óleo em terra (*onshore*). Os autores estudaram a composição química de uma AP salina e estimaram a contribuição da DQO de cada componente. O sistema tinha a seguinte composição em seqüência: um tanque de sedimentação, um anóxido, outro tanque de sedimentação, dois reatores aeróbios e um último tanque de sedimentação. Durante o

tratamento da AP, os resultados mostraram que os níveis de DQO, óleos e graxas e sólidos suspensos apresentaram tendências decrescentes durante o todo o processo. A maioria da DQO originou-se de óleos e graxas da AP bruta. A DQO pelos óleos e graxas diminuiu muito com o tratamento contínuo e ao final foi inferior 17% da DQO medida. Outros produtos químicos medidos, incluindo os ácidos orgânicos, compostos carbonílicos, fenóis voláteis, ânions redutores e metais não foram as principais fontes de DQO durante todo o processo de tratamento. A maioria dos componentes solúveis que contribuía para a DQO residual ainda era desconhecida e após o tratamento biológico a contribuição de DQO por estes componentes foi maior que 57% da DQO medida. Isso indicou que alguns componentes desconhecidos contribuíram para a DQO residual e possivelmente incluem componentes inertes originais e substâncias poliméricas extracelulares (SPEC).

3.4- Toxicidade por cátions em meio anaeróbio

A AP por possuir alta salinidade e assim alto teor de sódio poder ser considerada um efluente com um componente tóxico ao tratamento biológico, além dos hidrocarbonetos inerentes a sua constituição. O efeito tóxico pode ser definido como um efeito adverso, não necessariamente letal, sobre o metabolismo bacteriano, dependente da dose do composto, no caso o sódio, e do tipo de sistema biológico empregado. O antagonismo seria o efeito contrário produzido por um elemento sobre o outro ou sobre uma função bioquímica no organismo (OLMO, 2005). Concentrações elevadas de sódio causam estresse osmótico da célula ou inibem rotas de degradação do substrato, reduzindo a eficiência do tratamento ou provocando a falência do reator (KARGI e DINCER, 1996).

Segundo Kugelman e Chin (1971) a adaptação ao efeito adverso da toxina pode representar um ajuste na população biológica, ou ainda uma reorganização da capacidade metabólica dos organismos em superar o metabolismo modificado produzido pela substância tóxica. Reduções significativas na toxicidade podem ser obtidas se a concentração do tóxico é aumentada lentamente. Ainda, segundo esses autores, a presença de outros cátions, como o potássio causa efeitos de antagonismo ou sinergismo, resultando em variações significativas na sensibilidade ao sódio.

Woolard e Irvine (1995) citam que a alta concentração de sal pode romper membranas celulares e desnaturar enzimas que são letais à maioria dos microrganismos,

além do que concentrações crescentes de sal tendem a perturbar as funções metabólicas normais e reduzir a velocidade de degradação da matéria orgânica. Kargi e Dincer (1996) reforçam a teoria citando que o alto teor de salinidade na água residuária pode causar plasmólise (perda de água do interior da célula para o meio) e perda da atividade celular, reduzindo a eficiência de remoção de matéria orgânica. Além disso, mudanças na força iônica do meio provocada por excesso de cátions, por exemplo, prejudicam o desempenho do sistema biológico, devido à sensibilidade dos microrganismos a tais mudanças. Yerkes et al. (1997) observaram que a presença de solutos compatíveis dentro das células bacterianas pode ajudar a balancear o estresse associado a altas concentrações de sódio no meio líquido.

Em 1965, os pesquisadores Ludzack e Noran indicaram que a inibição por cátions (em base molar) segue a seguinte ordem: sódio, amônio, potássio, cálcio e magnésio. Além disso, os autores constataram que a inibição causada pelo excesso de um cátion pode ser minimizada pela ação de outro, daí vem o efeito antagonista. Eles também afirmaram que os principais fatores que podem afetar a fisiologia das arquéias metanogênicas são a constituição catiônica celular e a concentração do cátion do meio.
No mesmo ano, Kugelman e McCarty (1965) afirmaram que a variação dos resultados da toxicidade dos cátions em sistemas anaeróbios é devido à influência da complexidade dos vários efeitos dos cátions incluindo antagonismo e sinergismo. Eles ainda relataram que os cátions possuem um papel nutricional no metabolismo de todos os organismos, pois, servem como ativadores enzimáticos para várias reações bioquímicas. Ocorrendo então uma interação entre cátions e enzimas, sendo essas interações designadas como produtoras de estimulação quando o ativador metálico correto se une à enzima, resultando em aumento da velocidade de reação. Entretanto, efeitos tóxicos podem ser produzidos quando a enzima se une ao ativador metálico errado, o que diminui a velocidade de reação. O antagonismo pode ser explicado como uma espécie de competição, entre o cátion funcional e o não-funcional, pela superfície enzimática. O cátion funcional é um componente nutricional que a célula necessita em maior quantidade do que o não funcional.

A toxicidade é um efeito adverso, nem sempre letal, mas inibitório dos sistemas biológicos e pode ser causada por metais pesados, sulfetos, amônia, cátions e compostos orgânicos que podem retardar ou minimizar a metanogênese. Muitos são os trabalhos sobre a toxicidade causada pelos metais pesados ou pela amônia, porém são poucos os relatos das inibições obtidas pela presença de cátions.

Em seu trabalho Crambert (2004) trata sobre o transporte de sódio e potássio nas células. Na maioria dos eucariontes superiores o transporte se dá através da bomba de sódio. Para se obter energia e possibilitar este transporte ocorre hidrólise do fosfato terminal da molécula de ATP transportando 3 íons de Na^+ para o meio extracelular e 2 íons de K^+ para o meio intracelular. Tal transporte estabelece um gradiente eletroquímico proporcionando a regulação do volume e pH intracelulares e a captação de nutrientes extracelulares como a glicose, aminoácidos, vitaminas e outros compostos essenciais às células. A exportação de sódio da célula proporciona a força motriz para que certos transportadores façam a importação da glicose, aminoácidos e outros nutrientes importantes para a célula. A translocação de sódio de um lado do epitélio para o outro cria um gradiente osmótico que suporta a absorção de água. Isto explica a grande necessidade de íons livres de potássio para uma grande concentração de sódio. Este sistema é bastante sensível a alterações nas concentrações de íons no sistema.

Segundo Woolard e Irvine (1995), altas concentrações de sais podem romper membranas celulares e desnaturar enzimas que são letais à maioria dos microrganismos. Os autores também afirmam que concentrações crescentes de sal tendem a perturbar as funções metabólicas normais e reduzir a velocidade de degradação da matéria orgânica.
Em 1964, McCarty fez uma correlação dos cátions de sais de metais alcalinos e alcalinos terrosos como o sódio, potássio, cálcio e magnésio e o seu efeito no tratamento anaeróbio (Tabela 3.4).

Tabela 3.4: Concentrações (em mg/L) consideradas estimulatórias e inibitórias de cátions alcalinos e alcalinos terrosos.

CÁTION	EFEITO ESTIMULATÓRIO	EFEITO INIBITÓRIO	EFEITO ALTAMENTE INIBITÓRIO
Sódio	100-200	3.500-5.500	8.000
Potássio	200-400	2.500-4.500	12.000
Cálcio	100-200	2.500-4.500	8.000
Magnésio	75-150	1.000-1.500	3.000

Fonte: McCarty (1964).

As concentrações listadas como estimulatórias são aquelas desejáveis e vão permitir a máxima eficiência no processo. As moderadamente inibitórias são aquelas normalmente toleradas, mas que requerem alguma aclimatação pelos microorganismos; quando introduzidas de repente elas podem retardar o processo significativamente por períodos que variam de uns poucos dias a semanas. As concentrações listadas como

altamente inibitórias são aquelas que vão normalmente retardar o processo por longos períodos e o tempo requerido para o tratamento efetivo pode ser excessivamente longo. Segundo Kargi e Dincer (1996), o alto teor de salinidade no afluente de um sistema biológico pode causar plasmólise (perda de água do interior da célula para o meio) e perda da atividade celular, reduzindo a eficiência de remoção de matéria orgânica. Além disso, mudanças na força iônica do meio provocada por excesso de cátions, por exemplo, prejudicam o desempenho do sistema biológico, devido à sensibilidade dos microrganismos a tais mudanças.

Kugelman e McCarty (1965) observaram que em concentrações de cloretos de até 230 mg/L a metanogênese ainda ocorria de maneira satisfatória enquanto que valores de aproximadamente 4.600 mg/L foram extremamente inibitórios. No estudo da remoção de carga de matéria orgânica em ambiente salino, Guerrero et al. (1997) observaram que para uma DQO de 5 kg O_2/m^3.dia e uma concentração de cloretos de 7.500 $mgCl^-/L$ obteve-se uma eficiência de aproximadamente 80% de remoção de DQO.

Krongthamchat e Riffat (2005) estudaram o efeito do sal na atividade metanogênica específica e demonstraram que a combinação de elevadas concentrações de sal ($\geq$ 30.000 mg/L) e baixas temperaturas (25° C) conferiam efeitos drásticos na atividade metanogênica específica.

Riffat e Krongthamchat (2006) testaram a influência do tipo de inóculo ao avaliar a atividade de três populações de bactérias, na presença de NaCl (0-50 g/L). Os autores utilizaram microorganismos halófílos, outros oriundos de digestor anaeróbio e uma mistura de metanogênicas halófílas e o mesmo lodo do digestor (proporção de 1 para 2). Naturalmente foi mostrado que as halófilas, quando presentes no inóculo, foram decisivas na diminuição da fase lag. Para a cultura mista a fase lag foi insignificante com concentrações de NaCl de 0-35 g/L. Já efeitos adversos foram encontrados com o lodo do digestor contendo mais que 5 g/L de sal. O aumento da concentração de NaCl aumentou o tempo da fase lag significativamente.

Vyrides e Stuckey (2007) realizaram testes de atividade metanogênica com concentrações de sal variando de 0 a 50.000 mg NaCl/L, com um substrato concentrado de glicose que fornecia uma DQO de 2.000 mg O_2/L e duração de cerca de 250 horas. A biomassa exposta a 10.000 mg NaCl/L não sofreu alteração significativa na atividade metanogênica em comparação com o teste sem sal, enquanto que a biomassa exposta à 20.000 mg NaCl/L exibiu uma inibição de 65% da geração de metano e ao final do teste

demonstrou boa recuperação chegando a valores bem próximos do teste com 10.000 mg NaCl/L. Concentrações superiores a 30.000 mg NaCl/L causaram grande inibição chegando a níveis de 88%; entre 40.000 e 50.000 mg NaCl/L a atividade foi praticamente desprezível durante todo o ensaio. Os reatores foram submetidos a realimentações, também com a solução salina, e os que recebiam concentrações de 10.000 e 20.000 mg NaCl/L mostraram uma elevação na geração de metano com redução da inibição. Para os reatores com concentrações acima de 40.000 mg NaCl/L não foram observadas alterações significativas mesmo depois da terceira alimentação.

Em suma, a toxicidade da AP aos microorganismos é difícil de quantificar. Enquanto a toxicidade dos compostos individuais possa dar uma idéia da toxidade global do efluente, mas possíveis efeitos sinergéticos devem ser avaliados. Todos os diferentes resultados, encontrados nos estudos mencionados acima, podem ser atribuídos às condições de estudo tipos de inóculo, configurações de tratamento, de outros íons presentes.

3.5- Efeito da salinidade em culturas convencionais

Para culturas não aclimatadas a introdução da salinidade causa diversos efeitos na biomassa. Estudos com culturas de instalações de esgotos domésticos, como lodos ativados, indicaram quatro problemas básicos encontrados quando efluentes contendo de 0,1 a 5% de NaCl foram tratados (WOOLARD e IRVINE, 1995): As culturas convencionais são sensíveis à mudanças de carga iônica. Com o aumento da salinidade, o efeito trás a redução na eficiência de remoção da carga orgânica, aumento da concentração de sólidos suspensos do efluente e perda dos sólidos voláteis do reator. A magnitude do choque, requerido para estas modificações no sistema, depende do tipo da cultura, da composição do efluente e do grau de mudança da salinidade. Em geral, mudanças na salinidade de 0,5 a 2% causam significante prejuízo ao desempenho do sistema. Rápidas mudanças na concentração de sal causam mais problemas que mudanças graduais. Porém, mesmo com culturas aclimatadas, o desempenho depende relativamente de uma constante carga orgânica e de um rápido ajuste da concentração de sal do efluente; O segundo problema seria que o aumento da concentração de sal prejudica o funcionamento normal do metabolismo celular e reduz a cinética de degradação; O terceiro, que sistemas de tratamento de efluentes salinos possuem altas

concentrações de sólidos suspensos; E por último que, embora uma certa aclimatação ao sal possa ser esperada das culturas convencionais, a extensão da adaptação é limitada.

Também é ressaltado que a aclimatação obtida não é permanente. As culturas adaptadas a elevadas concentrações de NaCl perdem esta habilidade rapidamente quando expostas à pressões iônicas menores (WOOLARD e IRVINE, 1995).

Ratificando essa questão, Speece (2008) fez uma afirmação relevante, pois cita que é comprovada que a alta concentração de sódio é tóxica a biomassa anaeróbia não aclimatada, mas as questões mais importantes seriam o potencial de aclimatação da biomassa, a taxa de metabolismo aparente após a aclimatação e como as características da aclimatação são mantidas ao longo do tempo.

Como o processo anaeróbio é executado por um consórcio de classes de microorganismos, estes respondem de forma diferente a um dado tóxico. Geralmente as bactérias metanogênicas acetoclásticas são consideradas a classe mais sensível. Quando os ácidos voláteis estão aumentando e metano decrescendo isso indica a inibição das metanogênicas mais do que das acetogênicas. Entretanto, com ácidos voláteis baixos e metano decrescendo a acidogênese deve está sendo inibida tanto ou mais do que a metonogênese (SPEECE, 2008).

3.6- Microrganismos que crescem na presença de sal

As bactérias que necessitam de uma grande quantidade de cloreto de sódio são conhecidas como halofílicas. Segundo Black (1999) os sistemas de transporte ativos através de membranas transportam os íons de sódio fora das células e concentram íons de potássio dentro dela. As halofílicas requerem sódio por 2 motivos: as células necessitam de sódio para manter a concentração alta de potássio intracelular para então suas enzimas funcionarem; e necessitam de sódio para manter a integridade de suas paredes celulares.

As bactérias que crescem de 0 a 15% e de 0 a 30% de NaCl são consideradas halotolerantes moderadas e halotolerantes extremas, respectivamente. E halofílica moderada, entre 3-15% de NaCl (WOOLARD e IRVINE, 1995).

Como estratégia adaptativa, para combater o problema do excesso de sal, as halobactérias mantêm o equilíbrio osmótico de uma concentração salina citoplasmática (KCl) similar à da solução em que estão imersas. Como consequência, o citoplasma exposto a elevadas forças iônicas requer diversas adaptações estruturais. Os organismos

que exibem sal no mecanismo citoplasmático de osmo-adaptação, como as halofílicas, são estritamente restritos a ambientes com elevada osmolaridade. Mas, todos os outros organismos (não halofílicos) possuem uma estratégia adaptativa que tem como característica principal, uma necessidade mínima de mudanças genéticas e um alto grau de flexibilidade, permitindo que tais organismos se adaptem a flutuações significativas na osmolaridade externa. Essa pode ser uma estratégia de vários microrganismos quando estes não possuem algum regulador osmótico para balancear a pressão osmótica exercida pela elevada salinidade (SLEATOR e HILL, 2001).

Um dos primeiros estudos relacionados ao crescimento de microorganismos em meios com grandes concentrações de sal (cerca de 28%) foi o de Zobell et. al. em 1937, em que a água do Great Salt Lake em Utah, EUA, foi utilizada para diluição durante o crescimento de microorganismos oriundos de esgotos domésticos e do solo. Neste estudo observou-se que nenhum dos microorganismos do esgoto sobreviveu e que apenas uma fração reduzida dos microorganismos do solo conseguiu se adaptar. Em diluições contendo concentrações menores (de 2,8 a 7% de sal) observou-se um crescimento de 7 a 18% das bactérias do esgoto.

Poolman e Glaasker (1998) observaram que para as células sobreviverem ao stress osmótico, necessitam acumular solutos específicos e compatíveis quando sujeitas a condições hiperosmóticas. Daí vem o uso dos antagonizantes, que ajudam a manter o equilíbrio osmótico.

3.7- Cátions antagonizantes os efeitos tóxicos do sódio

Uma forma de minimizar a toxicidade do sódio reside na utilização de solutos compatíveis, definidos como compostos que podem ser acumulados intracelularmente, em altas concentrações, sem interferir no metabolismo normal da célula. Dessa forma, esses compostos regulam a pressão osmótica causada pela presença do sal.

Segundo Mccarty (1964) o antagonista é um material que quando adicionado decrescerá ou antagonizará a toxicidade de outro material. Pouco é conhecido sobre como um antagonista trabalha, mas o uso pode ser muito eficiente.

Os antagonizantes, geralmente apresentam bons resultados na melhoria de eficiência de remoção de poluentes (OLMO, 2005; BASHARAT et al., 2004 a,b). Olmo (2005) utilizou betaína, cálcio e potássio. A betaína apresentou resultado pouco

satisfatório como regulador osmótico para minimizar a concentração de sódio nas células. Já os cátions proporcionaram melhoria da biodegradação.

Vale salientar que esses íons podem ser adicionados de diferentes formas. No seu trabalho, Olmo, (2005) utilizou soluções de acetato de cálcio e de potássio, o que fornecia alterações na DQO, enquanto que Basharat et al. (2004 a,b) utilizaram cloreto de cálcio e cloreto de potássio.

Um desequilíbrio da digestão anaeróbia (acidogênese/metanogênese) pode ocasionar geração de ácidos em excesso. Esse efeito pode ser mascarado pelo pH, caso haja no sistema alcalinidade suficiente para neutralizar os ácidos. Nos sistemas de tratamento de águas residuárias contendo elevadas concentrações de cloretos de sódio, de potássio e de magnésio, pensava-se que a toxicidade observada era causada pelos ácidos voláteis produzidos. No entanto, Mccarty e Mckinney (1961) já demonstraram que a toxicidade nesses sistemas está relacionada com o cátion dos sais (sódio, potássio e magnésio). Os ânions apresentaram efeitos relativamente menores e associados a propriedades, como o pH do meio. Os autores comprovaram que a toxicidade resultante da adição de 3.500 mg/L de sódio poderia ser antagonizada por outra adição de 500 a 1.000 mg/L de magnésio ou cálcio.

Em geral, a concentração máxima de Na^+ que pode ser aplicada aos processos anaeróbios é de 10.000 mg/L. No entanto concentrações maiores podem ser atingidas, caso a biomassa seja submetida a processo de adaptação, por meio de aumento gradativo da concentração de Na^+ (SPEECE, 1996). DeBaere et al. (1984) confirmam isso, pois a adaptação para o aumento gradativo de NaCl afetou significativamente a tolerância da associação da metanogênese quando comparada com a uma única adição de NaCl.

Speece (2008) cita exemplos da suplementação de metais traço, na redução da toxicidade do sódio. Em testes em reator tipo UASB, usando acetato como substrato, com a concentração de 20 g/L de sódio, a injeção de metais traço resultou no dobro da geração de gás e a viabilidade foi mantida com o dobro do tempo. Quando um inóculo foi exposto a 20 g Na^+/L, ele não produziu metano por 50 dias e as bactérias aparentemente “morreram”. Contudo ao ser incubado em contato com 5 e 12 g Na^+/L a biomassa produziu metano, e mostrou uma redução de 50% do gás com 12 g Na^+/L.

Speece (2008) também relata um trabalho de Kugelman e Chin (1971), onde a adição de 1.200 mg K^+/L foi suficiente para restaurar o rendimento e a taxa de decaimento, para os valores de quando foram anteriormente expostos a 8.000 mg Na^+/L.

Em experimentos anteriores realizados por Kugelman e McCarty (1965), pôde-se constatar que o potássio em concentrações de 78 a 2.350 mg/L, foi capaz de antagonizar a inibição pelo sódio em concentrações de 6.900 a 9.200 mg/L. A combinação de potássio e cálcio aumentou o antagonismo em relação ao potássio, em concentrações de 10.350 mg/L, 400 mg/L e 200 mg/L para o sódio, potássio e cálcio, respectivamente. A pesquisa realizada mostrou o fenômeno do antagonismo secundário, ou seja, o cálcio foi capaz de antagonizar o sódio mesmo na presença do potássio, antagonista primário.

Ainda em função deste efeito antagonista, Kugelman e McCarty (1965) sugeriram a adição de 24 mg K^+/L para 600 mg Na^+/L e de 12 mg Ca^{2+}/L para este mesmo valor de sódio. Em contrapartida Basharat et al. (2004a,b) sugerem a concentração de 535 mg K^+/L para 8.000 mg Na^+/L e 500 mg Ca^{2+}/L para 6.000 mg Na^+/L.

Por outro lado, DeBaere et al. (1984) não encontraram inibição em concentrações de sódio de até 29.000 mg Na^+/L, só detectando em 37.000 mg Na^+/L, com uma redução da atividade em cerca de 50%. Neste trabalho também foi inserida uma grande quantidade de potássio, aproximadamente 1,3 g K^+/L, o que pode ter influenciado na menor redução da atividade metanogênica, por se tratar de um antagonizante do sódio.

Durante a pesquisa de Woolard et. al. (1995) as variações bruscas, de 0,5 à 2% de sal, causaram danos significativos na eficiência do sistema, mostrando a importância de um aumento gradativo da salinidade ao longo da alimentação.

No estudo da remoção de matéria orgânica em ambiente salino, Guerrero et al. (1997) observaram que, para uma DQO de 5 kg O_2/m³.dia e uma concentração de cloretos de 7,5 g Cl^-/L, pôde-se chegar à uma eficiência de aproximadamente 80% de remoção de DQO.

Os estudos citados indicaram que a digestão anaeróbia, associada à utilização de antagonizantes e a diluição, seria uma alternativa para o tratamento de águas residuárias com alto teor de salinidade, como a água de produção.

3.8- Ecotoxicidade da água de produção causada aos organismos marinhos

Os testes de toxicidade com organismos aquáticos constituem uma ferramenta efetiva para avaliação de efeitos de poluentes sobre os organismos vivos (ZAGATTO e

BERTOLETTI, 2006). A ecotoxicologia aquática estuda os efeitos de substâncias químicas manufaturadas e de outros materiais, antropogênicos ou naturais, em organismos aquáticos. Os efeitos adversos de poluentes para os organismos incluem efeitos letais, a curto e longo prazo e efeitos sub-letais, tais como mudanças de comportamento, alterações do crescimento, da reprodução, da tomada de alimentos e outros (SOUSA, 2002; HARREL, 1985; HAGOPIAN-SCHLEKAT et al., 2001; BURTON JR. et al., 2005).

O Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia (LACE) do Departamento de Oceanografia da UFPE atua amplamente em pesquisa utilizando o copépodo betônico harpacticóide *Tisbe biminiensis* desde 1998, principalmente com sedimentos. A espécie tem sensibilidade moderada e relativamente constante a substância de referência dicromato de potássio. Esse organismo é cosmopolita, sendo amplamente encontrado no litoral do Nordeste. Os testes ecotoxicológicos com esses copépodos estão sendo frequentemente utilizados em testes letais e sub-letais de toxicidade, em função de sua facilidade de cultivo e de alimentação, alta fecundidade e resistência a condições laboratoriais. O seu tamanho reduzido facilita e diminui os custos para a realização dos testes; seu hábito epibentônico possibilita testar poluentes também na fase aquosa, ele também vem sendo usado como uma espécie de teste internacional em ecotoxicologia marinha (ARAÚJO-CASTRO et al., 2009).

O ensaio de toxicidade aguda permite estabelecer uma relação entre a concentração de exposição e a intensidade de efeitos adversos observados, além de calcular uma concentração letal (CL50). Esse índice que expressa a toxicidade aguda (CL50) é um valor virtual estatisticamente obtido. É um valor calculado que representa a melhor estimativa da concentração necessária para produzir a morte em 50% dos organismos e é, portanto, sempre acompanhada de meios de estimar seu erro (CHASIN e AZEVEDO, 2003). Também pode-se estabelecer uma comparação da toxicidade de uma substância, ou efluente, com outras substâncias na qual a toxicidade é conhecida.

É importante destacar que em testes de toxicidade deve-se considerar que estes representam uma condição restritiva aos organismos, se comparada com a condição no ambiente, uma vez que não há o fator diluição envolvido e não há como os organismos expressarem comportamentos de fuga ao serem expostos à agentes estressores (GABARDO, 2007). Porém, isso há de depender dos hábitos da espécie envolvida.

Os compostos que mais influenciam na toxicidade aguda e crônica da AP seriam os hidrocarbonetos aromáticos e os fenóis alquilados (OGP, 2005; UTVIK, 1999).

Alguns autores já buscaram identificar os componentes determinantes da toxicidade da AP sem muito sucesso (E&P FORUM, 1994). Apenas observa-se que a toxicidade não parece estar diretamente relacionada a apenas um fator, como o teor de óleos e graxas ou hidrocarbonetos. Isto se deve às interações entre os diversos componentes presentes na amostra, que em conjunto podem atuar de forma sinérgica, aditiva e/ou antagônica sobre a toxicidade da mesma (GARBADO et al., 2005).

O contato dos organismos marinhos com frações tóxicas do óleo pode levar à morte por intoxicação, especialmente associada às frações de compostos aromáticos. Entre os componentes mais tóxicos estão o benzeno, tolueno e xilenos. Estas substâncias apresentam considerável solubilidade em água (especialmente o benzeno), o que torna os organismos marinhos mais vulneráveis uma vez que absorvem estes contaminantes pelos tecidos, brânquias, por ingestão direta da água ou de alimento contaminado. Os hidrocarbonetos de baixo peso molecular apresentam intenso efeito tóxico agudo, principalmente devido a sua elevada solubilidade e consequente biodisponibilidade (GESAMP, 1993).

Os BTEXs, quando presentes na coluna d'água, frequentemente matam o plâncton ou outros estágios de vida de organismos a eles expostos, mesmo em concentrações inferiores a 5 mg/L. Em adição à ação tóxica dos hidrocarbonetos do petróleo e outros componentes químicos, a poluição por óleo pode fisicamente sufocar os organismos marinhos (KENNISH, 1997). Na literatura foram encontrados alguns trabalhos, utilizando copépodos a fim de testar a sensibilidade aos HPAs, que são substâncias comuns em resíduos de petróleo (LOTUFO 1997; STREET et al., 1998).

As águas de produção no Mar do Norte, caracterizadas por E&P Forum (1994) também apresentaram, de maneira geral, toxicidade para os organismos marinhos, sendo que o grupo que apresentou maior sensibilidade foi o dos crustáceos. Outros trabalhos pesquisados testam a AP com diferentes organismos, como alga, microalga, bactéria, peixe e microcrustáceos. (BRENDEHAUG et al., 1992; HENDERSON et al., 1999; BARBIERI, 2004; GABARDO, 2007).

4- METODOLOGIA

Esse capítulo apresenta os métodos utilizados neste trabalho e o detalhamento do procedimento experimental realizado para alcançar os objetivos propostos. A divisão da pesquisa foi baseada nas seguintes etapas:

- Caracterização físico-química e cromatográfica da água de produção de petróleo e respectivos métodos usados, adaptados ou avaliados;
- Testes de ecotoxicidade da água de produção de petróleo *in natura*, com um organismo marinho nativo do nordeste brasileiro (*Tisbe biminiensis*);
- Teste inicial de atividade metanogênica específica (AME) com esgoto sintético (ES) e de biodegradação anaeróbia, todos com lodo não adaptado (estação anaeróbia de tratamento de esgotos domésticos);
- Experimento com reatores anaeróbios UASB contínuos em IX fases operacionais com variação de TDH (24 e 48 horas) e de co-substrato (ES e metanol);
- Testes complementares de biodegradação:
    - Testes anaeróbios, utilizando o lodo oriundo dos reatores tipo UASB, em determinadas fases e condições;
    - Testes aeróbios, com lodo não adaptado (proveniente de um sistema de lodos ativados tratando esgotos domésticos), utilizando o afluente e efluente dos reatores UASB, em determinadas fases e condições;
- Acompanhamento da biomassa e mudança da morfologia na manta de lodo contida nos reatores contínuos tipo UASB, ao longo das fases operacionais.

4.1- Caracterização da água de produção de petróleo

4.1.1- Caracterização físico-química e cromatográfica

A AP utilizada para esse estudo foi originária da Unidade de Negócios de Exploração e Produção Sergipe e Alagoas (UN-SEAL), localizada na cidade de Pilar, estado de Alagoas. Segundo dados da ANP (2008), a Bacia de Sergipe–Alagoas é considerada uma bacia madura, que contém um volume estimado de 542,72 milhões de

m^3 de óleo e 51,98 bilhões de m^3 de gás. Toda a bacia possui 49 campos de óleo e/ou gás em produção e desenvolvimento, sendo 30 deles terrestres. No Ativo Pilar-Alagoas, denominado UN-SEAL, são gerados diariamente 430 m^3 de água de produção (ANP, 2008), quantidade significativa diante dos 700 reservatórios independentes de pequeno porte e mais de 100 zonas de produção. Na UN-SEAL a água de produção antes de ser re-injetada passa por um sistema de tratamento físico-químico, através de flotadores, que promove principalmente a remoção de óleos e graxas. Segundo a Petrobras, o Ativo Pilar-Alagoas, corresponde a 3,2% da produção total da empresa no Brasil. A UN-SEAL fica a cerca de 290 km da UFPE.

Antes do início das coletas para a caracterização físico-química do resíduo, foram realizadas visitas às instalações da unidade de produção de petróleo. Em tais visitas uma equipe técnica da UN-SEAL ministrou pequenas palestras para a apresentação da estrutura física da planta em estudo, as quais serviram como ponto de partida para o esclarecimento de dúvidas sobre o funcionamento da unidade de produção. Além disso, também foi realizado um reconhecimento físico e uma coleta exploratória em 5 pontos da planta de tratamento (Figura 5.1). Com os dados obtidos, pôde-se escolher o ponto de coleta mais apropriado para a pesquisa.

Durante a caracterização da AP foram realizadas 13 coletas mensais. A amostragem foi realizada num ponto onde a AP foi considerada bruta, coletando-se cerca de 100 litros. Os seguintes parâmetros físico-químicos foram determinados: DQO (bruta), cloretos, teor de óleos e graxas (TOG), pH, alcalinidade total e parcial, nitrogênio total e amoniacal, ácidos orgânicos voláteis (AOV), dureza ao cálcio e ao magnésio, fenóis totais, série de sólidos totais, sódio, potássio, cálcio, magnésio, ferro, cor verdadeira e aparente, salinidade, HPAs (Hidrocarbonetos Poliaromáticos) e BTEX (Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno).

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Essas análises seguiram os procedimentos das metodologias descritas no Standard Methods of Wastewater (1995), além de metodologias propostas por outros pesquisadores, publicadas em artigos técnicos e em literaturas específicas, quando necessárias.

Na Tabela 4.1 foram resumidas as análises físico-químicas realizadas na caracterização da AP, com as respectivas metodologias utilizadas.

Tabela 4.1: Análises e métodos utilizados na caracterização físico-química da AP.

ANÁLISES FÍSICO -QUÍMICAS	BREVE DESCRIÇÃO DO MÉTODO	SEÇÃO STANDARD METHODS (1995)
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	Método do refluxo fechado e micro colorimétrica com adaptações (SILVA, 2008)*	5220 – D
Cloretos	Método titulométrico com adaptações (FREIRE, 1999)*	4500 Cl^- – B
Alcalinidade	Método titulométrico com adaptações (Dilallo e Albertson, 1961, modificado por Ripley et al., 1986)*	-----
Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV)	Método titulométrico com adaptações (Dilallo e Albertson,1961, modificado por Ripley et al., 1986)*	-----
Turbidez	Método nefelométrico	2130 – B
Sulfato	Método turbidimétrico	4500 SO_4^- – E
pH	Método potenciométrico: pHmetro	4500 H^+ – B
Série de sólidos: Totais, Voláteis, Suspensos e Dissolvidos	Método gravimétrico: secagem em estufa e mufla com temperaturas variadas: totais e suspensos (103-105 ºC); dissolvidos (180 ºC); fixos e voláteis (550 ºC)	2540-C, D, E
Nitrogênio orgânico (total)	Método Kjeldahl semi-micro	4500 Norg – C
Nitrogênio amoniacal	Método titulométrico	4500 NH_3^- – C
Dureza (total, cálcio e magnésio)	Método titulométrico	2340 – C
Teor de Óleos e Graxas (TOG)	Método gravimétrico – extração a quente de óleos dissolvidos e emulsificados	5520 – D
Magnésio e Cálcio	Método indireto (pela Dureza)	-----
Cor aparente	Método da comparação visual com discos de vidro platina – cobalto, calibrados	2120 - B (2-2)
Fenóis totais	Método fotométrico direto	5530 – D
Potássio	Método fotômetro de chama	3500 K - B
Sódio	Método fotômetro de chama	3500 Na - B
Ferro	Método da Orto-fenatrolina	3500 Fe - B
BTEX	Cromatografia gasosa com microextração em fase sólida (SPME)*	------
Hidrocarbonetos Poliaromáticos (HPAs)	Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)*	------
Salinidade	Para reportar o resultado como cloreto de sódio (NaCl) o valor da análise de cloretos foi multiplicado pelo fator de conversão 1,65. Fórmula: mg NaCl/L = mg Cl^-/L x1,65	------

(*) adaptações analíticas.

Para a análise de DQO o método de referência foi a 5220-D (5-45) do Standard Methods (1995). Porém, a amostra apresentava alta salinidade e a metodologia recomendada só se aplica para amostras com concentrações de cloretos de até 2.000 mg/L. Esta metodologia foi adaptada para o tipo de AP estudada, através da adição do dobro da concentração recomendada (33,3 mg/L) de sulfato de mercúrio na solução digestora, eliminando assim a interferência da salinidade. Essa adaptação foi proposta por Chernicharo (2006). Todos os testes de adaptação com as devidas análises estatísticas estão melhor descritos em Silva (2008).

As análises de alcalinidade e ácidos voláteis utilizaram o método titulométrico proposto por Dilallo e Albertson (1961) e modificado por Ripley et al. (1986).
Para a realização das análises de cloretos utilizou-se o método titulométrico adaptado por Freire (1999), onde apenas a solução do nitrato de prata utilizado foi mais concentrada (0,21N) do que a indicada no método de referência (0,0141N).

O procedimento utilizado para a extração e determinação das concentrações dos BTEX consistiu em adicionar a um vial de 20 ml, 3,3 g de cloreto de sódio (NaCl), uma barra magnética (15 x 6 mm) e 11 ml da solução padrão de BTEX ou amostra. O vial foi então vedado com fita veda rosca de teflon e colocado sob agitação a 600 rpm por 4 minutos. Em seguida, com a fibra da SPME retraída na agulha, perfurou-se o septo do vial e a fibra foi exposta por 2 minutos à amostra para extração (adsorção) dos BTEX. Decorrido o tempo de extração, a fibra foi novamente retraída, a agulha foi retirada do septo e levada para inserção no cromatógrafo. O septo do injetor foi perfurado e a fibra foi exposta para dessorção térmica por 1 minuto e 30 segundos.

Para a determinação dos BTEX foi utilizado um cromatógrafo gasoso (CG) da marca Varian® CP 3380 com detector de ionização de chama (FID), injetor tipo *split-splitless* com liner para SPME de d = 0.8 mm e coluna tipo DB-5 com 30 m de comprimento, diâmetro de 0,53 mm e filme de 1,5 µm. Foram utilizadas fibras de SPME recobertas com 100 µm de PDMS. Esse método é utilizado no LSA e fazendo-se uma homogeneização completa da amostra se mostrou adequado ao tipo de resíduo estudado. As condições impostas ao CG estão na Tabela 4.2.

Tabela 4.2: Condições impostas ao CG para a determinação de BTEX.

PARÂMETRO	CONDIÇÃO ADOTADA
Temperatura do injetor	250 °C
Temperatura do detector	275 °C
Temperatura inicial	40 °C (1 min)
Rampa de aquecimento	84 °C (4 °C/ min por 2 min)
Temperatura final	14 min
Vazão do gás de arraste (H_2)	5 mL/min
H_2 para alimentar a chama	30 mL/min
Vazão de ar sintético	300 mL/min
Vazão do gás de make up (N_2)	33 mL/min

Os hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) foram determinados utilizando um cromatógrafo líquido com compartimento termostatizado para a coluna analítica e detector de fluorescência (HPLC), com coluna analítica de octadecilcilano (C18) polimérica com dimensões de 250 mm x 4.6 mm e partículas de 5µm.

As colunas de extração em fase sólida (SPE) foram de octadecilsilano (C18) de 3mL/5mg. Para utilizar a SPE foi usado um sistema de vácuo múltiplo (manifold comercial), além de filtro de nylon com porosidade de 22 µm e 25 mm de diâmetro e suporte para filtros com diâmetro de 25 mm; as mangueiras e rolhas foram de silicone. Toda a água foi purificada para apresentar resistividade de 18 MΩ.cm. O procedimento para preparação das colunas de extração em fase sólida consistiu em colocar no topo das colunas de SPE uma rolha perfurada na qual ficou fixada uma mangueira de silicone; Passou-se 5 mL de metanol HPLC a um fluxo de 1 mL/segundo sem deixar a coluna secar completamente (uma altura aproximada de 1 mm de solvente ficou sobre o adsorvente da coluna); Após passar o metanol, foi passada 5mL de uma solução aquosa a 5% de isopropanol seguindo o mesmo procedimento empregado na passagem do metanol.

Para o tratamento das amostras nas colunas de SPE foram filtrados 100 mL da amostra em filtro de nylon de 22µm a um fluxo de 1 mL/segundo e o cartucho foi seco completamente. Após eluir a amostra passou-se pelo cartucho 10 mL de uma solução aquosa a 5% de isopropanol a um fluxo de 1 gota/segundo (após este procedimento o vácuo foi ligado por cerca de 30 minutos para que o adsorvente da coluna secasse completamente. Dentro do manifold foi posto o suporte com balões de 10 mL, a boca dos balões foi acoplada na saída dos solventes da coluna de SPE.

Os HPAs foram então eluidos das colunas de SPE com 10 mL de diclorometano HPLC, em 5 alíquotas de 2 mL a um fluxo de 1 mL/segundo, antes de passar a próxima alíquota esperou-se o cartucho secar completamente. O eluato dos cartuchos de SPE que ficaram nos balões volumétricos foram transferidos para um balão de fundo redondo próprio de rotoevaporador e em seguida todo o diclorometano foi evaporado a uma temperatura de 40ºC; Os HPAs foram resuspendidos com 1 mL de acetonitrila HPC e transferidos para um vial.

A Tabela 4.3 mostra as condições utilizadas no HPLC para análise dos HPAs.

Tabela 4.3: Condições do HPLC para análise de HPAs.

PARÂMETRO	CONDIÇÃO ADOTADA	
Solvente A	Água	
Solvente B	Acetonitrila	
Temperatura da coluna	10 ^{o}C	
Volume de injeção	50 µL	
Detector	Fluorescência	
Sensibilidade do detector	12	
Gradiente de eluição	**Tempo (min)**	**%B**
	0	90
	3	90
	10	100
	26	100
	28	90
Tempo final da análise: 35 minutos		
	Emissão (nm)	**Compostos**
Comprimentos de ondade excitação: Fixado em 260 nm	350	Naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno
	392	Antraceno, pireno, Benzo(a)Antraceno, Criseno, Fluoranteno, Benzo(b)Fluoranteno, Benzo
	430	(K)Fluoranteno, Benzo(a)Pireno, dibenzo(a,h)Antraceno, Benzo(g,h,i)Perileno,.
	520	Indeno [1,2,3-cd]Pireno

Devido às limitações metodológicas impostas pela salinidade e tipo de amostra não foi possível determinar os metais presentes. Pimentel (2008) descreve que o método ideal para analisar metais em água de produção salina seria por fluorescência de raios X por reflexão total com radiação síncrotron. Apenas para ter um indicativo da ordem de grandeza dos metais utilizou-se os dados obtidos através de um boletim técnico do Centro de Pesquisas da Petrobras (CENPES) na unidade de Tecnologia de Recuperação e Análise de Reservatórios. Esse boletim foi solicitado pela UN-SEAL para uma investigação das fontes de resíduos para incrustação dos dutos num período próximo ao início da pesquisa.

4.1.2- Testes de ecotoxicidade

Os testes de ecotoxicidade foram realizados, no Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia (LACE) do Departamento de Oceanografia da UFPE.

A espécie-teste, o copépodo harpacticóide *Tisbe biminiensis*, foi obtida na praia de Olinda, Pernambuco, sendo isolada para o cultivo, que já data de várias gerações, no LACE. No laboratório, os organismos foram cultivados em recipientes de polietileno com água do mar filtrada, salinidade 33 ± 2 UPS, temperatura de 27 ± 2 ºC, fotoperíodo

controlado, de 12/12 h claro/escuro e alimentados com microalga (diatomácea) e ração para peixes. Periodicamente foram coletados e adicionados novos indivíduos ao banco de organismos, a fim de garantir a variabilidade genética do mesmo. Para a alimentação dos organismos foram cultivadas, no laboratório, as microalgas *Thallassiosira fluviatilis e Chaetocerus mulleri*.

A AP utilizada nos testes foi coletada em duas situações: a primeira referente as amostras com os maiores valores de óleos e DQO; e a segunda, as amostras com os valores na média. As amostras foram diluídas em água destilada, a fim de se obter uma salinidade compatível à utilizada no cultivo do copépodo.

Nos bioensaios os testes seguiram basicamente o método descrito por Lotufo e Abessa (2002), mas com algumas modificações (tipo de recipiente e organismo).
Após a diluição das amostras, foram utilizadas cinco réplicas de cada diluição, contendo 20 mL para cada concentração. Em seguida 10 fêmeas ovígeras dos copépodos foram submetidas a cada recipiente-teste. Um pequeno volume de alga foi adicionado nos recipientes, a fim de se obter uma concentração de 0,2µg Chl^{-a}/mL.

Os exemplares foram incubados em estufa com temperatura de 25ºC e fotoperíodo de 12h, ambiente claro, e 12h, ambiente escuro, por 96h. No final do experimento o conteúdo do recipiente foi fixado com formol 4% e corado com rosa de bengala. No momento da contagem foram observadas as fêmeas, vivas ou mortas no final do experimento, através da coloração rosa intenso (vivas) rosa claro (mortas). A sobrevivência dos organismos foi observada a cada 24 horas, até um total de 96 horas.

Paralelamente a cada bioensaio, foram realizados testes com a substância de referência dicromato de potássio, a fim de avaliar se a sensibilidade do grupo usado no teste estava normal. Também foi realizado um teste controle com 10 fêmeas incubadas sem a adição da AP, para serem utilizadas como indivíduos controle no experimento.

Os resultados obtidos foram analisados pelo método Trimmed Spearman-Karber (HAMILTON et al., 1977) para obtenção da concentração letal média após 96 horas de exposição (CL50-96H), na qual o valor calculado representou a melhor estimativa da concentração necessária para produzir a morte em 50% dos organismos testados.

4.1.3- Testes de atividade metanogênica específica máxima (AME) e de biodegradação anaeróbia

O teste de AME pode ser utilizado para a avaliação da qualidade do lodo na degradabilidade de um determinado efluente em condições anaeróbias. Os testes fornecem a taxa de produção de metano ou a taxa de consumo de substrato metanogênico por unidade de biomassa microbiana. São realizados em ambiente anaeróbio, o qual deve manter as condições ambientais necessárias e os nutrientes para a obtenção da atividade biológica máxima. A população de microrganismos deve estar presente em quantidade adequada e o alimento, acima de concentrações limitantes, para a obtenção da taxa máxima de remoção de substrato (MONTEGGIA, 1997).

O substrato aplicado varia de uma mistura de ácidos voláteis, normalmente acético, propiônico e butírico, a um substrato simples, geralmente o acetato (JAMES et al., 1990). O resultado é calculado a partir da medição direta da taxa de produção de metano, por unidade de biomassa e unidade de tempo. A biomassa é expressa como concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV).

Como o teste ainda não foi objeto de padronização cada grupo de pesquisa usa uma metodologia mais apropriada para o seu trabalho. Sobre uma tentativa de padronização do testes, Aquino et al. (2007), citam a *International Water Association* (IWA), que criou um grupo de especialistas para harmonizar diversos protocolos de análises inclusive o de AME. A falta de padronização da AME torna difícil a comparação de diferentes resultados encontrados na literatura.

As metodologias se diferenciam em vários pontos: concentração e aclimatação do lodo de inóculo; volume de incubação; monitoramento de produção de metano e quanto à agitação ou não da mistura. O tipo de substrato escolhido como fonte de carbono também pode variar. Nesse ponto observam-se grandes divergências. Uma prática comum é o uso de uma mistura dos principais ácidos gerados na acidogênese, acetato, propianato e butirato, na proporção de 100:100:100 g/L com uma proporção de %DQO de 24,3:34,4:41,3, respectivamente (FLORENCIO, 1994). Neste caso, pode-se estimar a produção de metano por duas vias (a do acetato e a do hidrogênio) e avaliar a capacidade sintrófica do sistema verificando a capacidade de converter o propionato e o butirato em acetato. A adição somente de acetato é comumente utilizada, porém a máxima produção de metano obtida por esta via é de aproximadamente 70%; portanto

concluir que desta maneira poderia se está subestimando, no mínimo em 30% a capacidade máxima da produção de metano.

Avaliando essas questões, o teste de AME proposto por FIELD et al. (1988) foi utilizado nesse trabalho, com algumas adaptações. Para os testes de biodegradabilidade, seguiu-se também o método proposto por esses mesmos autores.

O objetivo foi avaliar a atividade do lodo e a produção de metano, à medida que a água de produção fosse adicionada. Nesse teste inicial de AME a AP foi diluída no esgoto sanitário sintético (ES), nas proporções de 2, 5, 10 e 15% de AP. Foram montados dois reatores (em duplicata) considerados como controle, um com esgoto sintético (B ES) e outro com nutrientes (B nut) para o desconto da produção de metano oriunda da respiração endógena.

O teste de AME de biodegradabilidade anaeróbia, consistiu basicamente em incubar a biomassa (2 STV/L), em meio contendo substrato e nutrientes, medindo-se a quantidade de gás produzido por unidade de tempo e por unidade de massa bacteriana. Para biodegradabilidade o decaimento da DQO foi avaliado. Em ambos os testes foram utilizadas garrafas de soro de vidro (reatores) com volume total de 500 ou 1.000 ou 2.000 mL. As amostras utilizadas foram tomadas em triplicata. O volume do reator utilizado foi dependente da quantidade de lodo disponível para o ensaio. Todos os testes foram estáticos (sem agitação). A incubação foi realizada em uma sala climatizada com temperatura controlada em $30 \pm 2^{o}C$.

O substrato utilizado para a AME foi composto de esgoto sintético (ES), metanol ou uma mistura dos ácidos: acético, butírico e propiônico (neutralizado com NaOH a 40% m/v), na proporção de 1:1:1, acrescido de uma solução de macro e micro nutrientes (20% v/v útil). A solução que forneceu o excesso de macro e micro-nutrientes foi baseada na proposta por Florencio (1994) (Tabela 4.4). No caso, o substrato com a mistura dos ácidos correspondeu a uma DQO de 4 g/L. No momento da utilização das soluções, 1 mL da solução de micronutrientes foi adicionado a cada litro da solução de macro-nutrientes, perfazendo uma solução única.

Para a avaliação da biodegradabilidade foi usada a AP diluída com o ES, em proporções previamente definidas.

O volume de metano produzido foi medido diariamente até a fase de declínio da sua produção. A medição foi através do deslocamento de uma solução de NaOH (3% m/v) com a adição de azul de bromotimol como indicador, contida em uma garrafa de soro de 1.000 mL invertida. O volume deslocado da solução correspondia ao CH_4

(biogás) produzido, e era recebido em uma garrafa plástica com funil, que era pesada. Nos testes de biodegradação também foi medido o decaimento de DQO, assim como o pH do sistema.

Foi realizada a correspondência do volume de metano em massa de DQO, de forma a possibilitar que a AME fosse expressa em termos de g DQO_{CH4}/g SSV.d. Para isso criou-se uma curva que relacionava a produção cumulativa de CH_4 x tempo. Foram selecionados os pontos que compunham a reta com maior inclinação (maior coeficiente angular). Calculou-se a AME com a equação (1):

$$AME = (g\ CH_4\ d^{-1})/(FC.V.SSV) \qquad \text{(Equação 1)}$$

Sendo:

(g CH_4/d) = máxima taxa de produção diária
FC = fator de conversão de CH_4 para DQO
V = volume do reator em litros
SSV = concentração do lodo

Tabela 4.4: Soluções de macro e micro nutrientes.

SOLUÇÃO	REAGENTES	CONCENTRAÇÃO (g\L)
Macronutrientes	NH_4Cl	0,280
	K_2HPO_4	0,252
	$MgSO_4.7\ H_2O$	0,100
	$CaCl_2$	0,007
	$NaHCO_3$	0,400
	Extrato de levedura	0,100
Micronutrientes	$FeCl_2.4H_2O$	2,000
	$ZnCl_2$	0,050
	$MnCl_2.4H_2O$	0,500
	$NiCl_2.6H_2O$	0,142
	$NaSeO_3.5HO$	0,164
	H_3BO_3	0,050
	$CuCl_2.2H_2O$	0,038
	$CoCl_2.6H_2O$	2,000
	$AlCl_3.6H_2O$	0,090
	$(NH_4)_6.Mo_7O_{24}.4H_2O$	0,050
	EDTA	1,000
	Resazurina	0,200
	HCl	1,000 (mL\L)

Fonte: Florencio, (1994).

A FIG. 4.1 ilustra o aparato experimental usado nesses testes. Já na FIG. 4.2 é visto um esquema explicativo.

Figura 4.1: Foto ilustrativa do aparato para realização dos testes de AME e de biodegradabilidade anaeróbia.

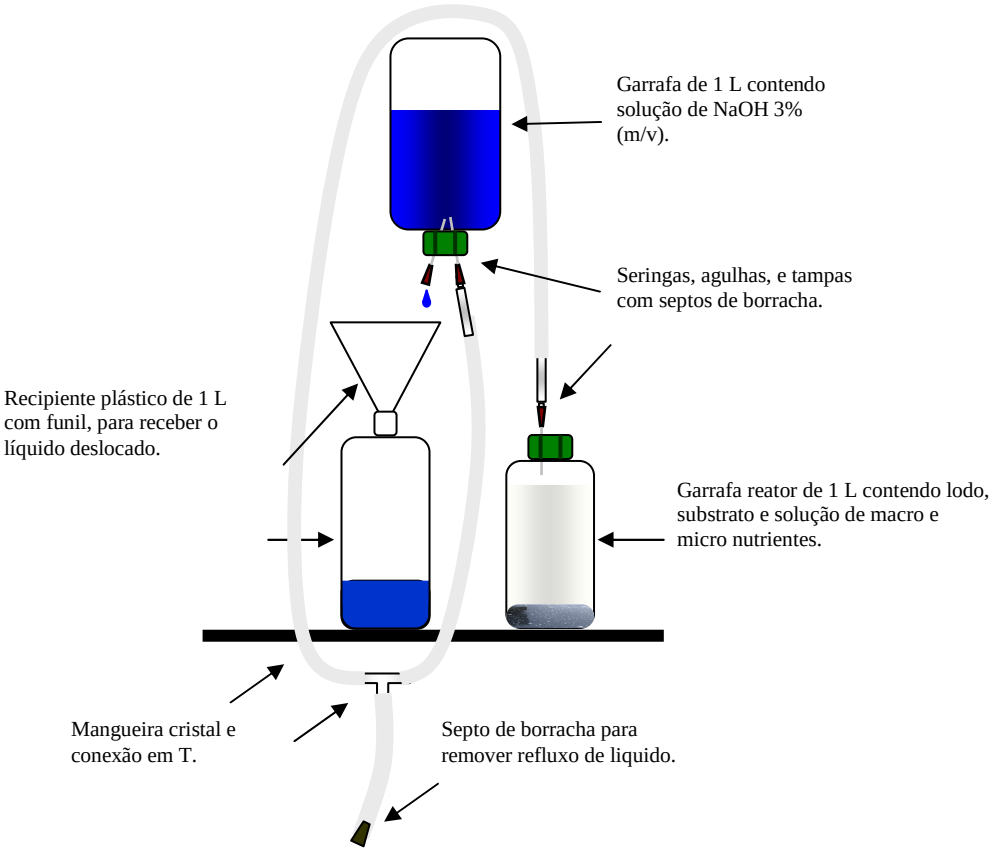


Figura 4.2: Esquema do aparato para realização dos testes de AME e de biodegradabilidade anaeróbia.
FONTE: LUCENA, 2008.

Com base na metodologia exposta, primeiro foi realizado um ensaio de AME e de biodegradação anaeróbia (porcentagens de AP de 2, 5, 10 e 15%), usando ES como substrato e com lodo não adaptado, que foi oriundo de um reator tipo UASB que tratava esgotos domésticos. Após esse primeiro teste foi iniciado o experimento com os reatores anaeróbios tipo UASB.

4.2- Experimento com reatores anaeróbios tipo UASB

Para avaliar a tratabilidade da água de produção de petróleo com alta salinidade foram utilizados dois reatores UASB idênticos (Reator A e B), cuja operação ocorreu em nove fases, com variação de TDH (24 e 48 horas), DQO e consequentemente das cargas orgânicas aplicadas. Para o reator A, nas sete primeiras fases de operação, foi usada a água de produção diluída em esgoto sanitário sintético (ES) e nas duas últimas fases o metanol foi utilizado como substrato de fácil degradação. Para o Reator B, as seis primeiras fases operaram com água de produção diluída em ES. Nas duas fases seguintes o substrato foi totalmente retirado, sendo introduzido na forma de metanol na última fase.

4.2.1- Reatores tipo UASB

O volume útil de cada reator era de 7 litros. A Tabela 4.5 exibe os parâmetros de projeto dos reatores UASB. Na FIG. 4.3 é visto um dos reatores, e na FIG. 4.4 é mostrado o seu desenho esquemático.

Tabela 4.5: Parâmetros de projeto dos reatores UASB.

PARÂMETROS	VALORES
Altura útil do reator (H_u)	90 cm
Diâmetro nominal (D_n)	10 cm
Volume útil do reator (V_u)	7,0 litros
Tempo de detenção hidráulico mínimo ($TDH_{mínimo}$)*	7,0 horas
Carga hidráulica volumétrica máxima ($CHV_{máxima}$)**	3,25 L/L.d
Velocidade ascensional máxima ($v_{máx}$)***	12,7 cm/h
Carga orgânica volumétrica máxima estimada ($COV_{máx\ estimada}$)****	8,11 Kg.DQO/m^3.d

* Q_{MAX} = 1 L/h; ** $TDH_{mínimo}$; *** Q_{MAX} = 1 L/h; **** $DQO_{máxima\ adotada\ cálculo\ inicial}$ = 2.500mg/L.

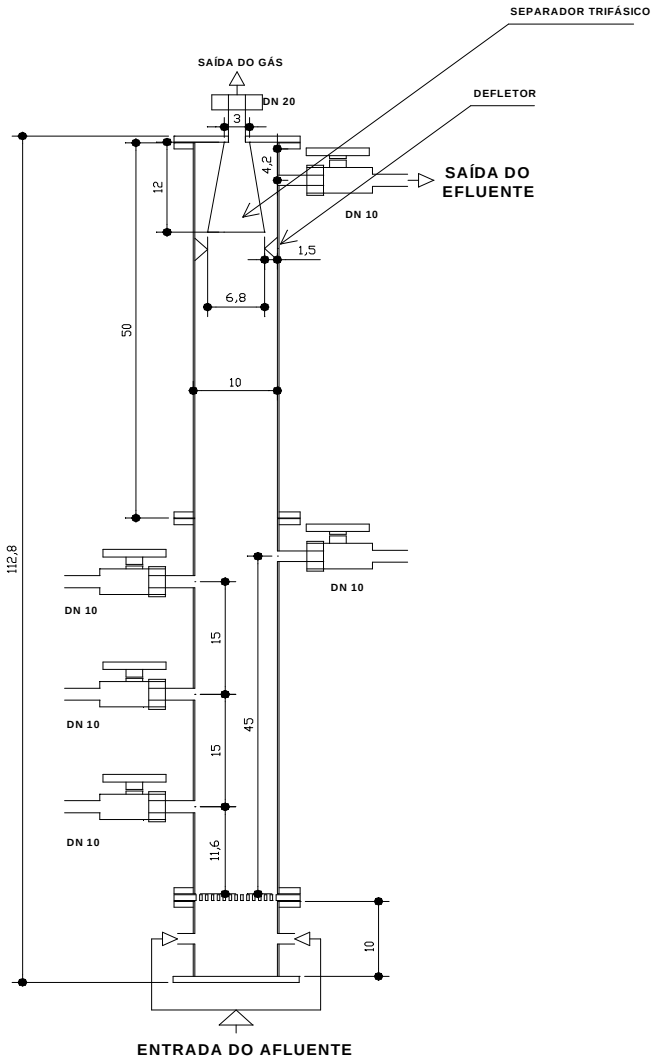


Figura 4.3: Reator tipo UASB.

Figura 4.4: Esquema do reator UASB.

Os reatores foram mantidos em uma sala com temperatura ambiente variando de 30ºC ± 3ºC e submetidos a um regime contínuo de alimentação. O tempo de detenção de ambos foi de 24 e de 48 horas. Inicialmente os reatores operaram apenas com água por 10 dias, de forma a detectar possíveis vazamentos ou problemas de instabilidade na bomba dosadora (tipo JERCO-DL/LS-E). Durante a operação com água apenas as vazões foram monitoradas e corrigidas.

4.2.2- Inóculo

Como inóculo foi utilizado lodo granular de indústria de processamento de milho, misturado com lodo floculento de estação de tratamento de esgoto doméstico

(ETE Mangueira – Reator UASB), na proporção escolhida de 1 para 2 (m/m), ficando assim cada reator com uma concentração de sólidos suspensos voláteis de 24,2 kg SSV/m^3. O mesmo inóculo foi utilizado nos dois reatores. Como se dispunha de pouco lodo granular (indústria de processamento de milho) optou-se por usá-lo apenas na mistura de inoculação dos reatores. Um teste de atividade metanogênica específica foi realizado antes do início dos experimentos contínuos, usando apenas o lodo da ETE Mangueira.

4.2.3- Esgoto sanitário sintético

O esgoto sanitário sintético (ES) utilizado foi preparado de maneira a simular um afluente de sistemas de tratamento de esgotos sanitários e possuía os principais compostos normalmente presentes nesse tipo de resíduo líquido. A composição e as características desta água residuária estão apresentadas na Tabela 4.6, onde são descritas as contribuições, em percentual de DQO, dos compostos orgânicos utilizados (proteínas, carboidratos e lipídeos). As proporções eram mantidas e os valores calculados para atingir a DQO desejada.

Tabela 4.6: Composição do esgoto sanitário sintético (ES).

COMPOSTO	**% DQO**	**FONTE**	**Concentração para DQO de 1.5 g/L**
Proteínas	50%	Extrato de carne (50%)	0,624 g/L
Carboidratos	40%	Sacarose (20%)	0,108 g/L
		Amido (60%)	0,336 g/L
		Celulose (20%)	0,123 g/L
Lipídios	10%	Óleo de soja (emulsionado com 5 gotas de detergente/L)	0,153 g/L
Tampão	----------	Bicarbonato de sódio	0,60 g/L

*Foram adicionadas 5 gotas de detergente comercial por litro para emulsionar o óleo.
Fonte: Torres (1992).

A contribuição em proteínas foi realizada através de extrato de carne comercial. Os carboidratos foram obtidos através da adição de açúcar, amido comercial e celulose micro-cristalina. A fonte de lipídeos foi óleo de cozinha à base de soja. Além destes compostos, foram adicionados 600 mg/L de bicarbonato de sódio, visando à manutenção do pH nos reatores durante a realização da pesquisa. A manutenção do pH

foi necessária, para que o mesmo permanecesse dentro da faixa considerada ideal ao crescimento dos grupos microbianos presentes no tratamento anaeróbio.

O substrato era preparado uma vez por dia, em baldes plásticos, à temperatura ambiente, usando água destilada em volume suficiente para alimentar os reatores durante o tempo de detenção utilizado.

4.2.4- Fases operacionais

Os reatores foram operados inicialmente em cinco fases com TDH de 24 horas.

- Fase I (0-119 dias): usado apenas ES com cerca de 1.000 mg DQO/L.
- Fase II (119-191 dias): adicionada AP na porcentagem de 5% (v/v) de alimentação (95% ES) e o dobro da concentração de DQO (2.000 mg/L).
- Fase III (191-230 dias): água de produção adicionada na porcentagem de 10% de alimentação (90% ES) e mesma concentração de DQO da fase anterior.
- Fase IV (230-314 dias): mesma proporção de AP (e salinidade) em ambos reatores, mas o afluente deles foi diferenciado: o Reator A recebeu a suplementação de potássio, até 1.000 mg/L de K^+, na forma de KCl;
- Fase V (314-414 dias): manteve-se a porcentagem de AP das 2 fases anteriores (Fases III e IV), mas na confecção do ES a DQO foi reduzida pela metade.

Nas quatro fases seguintes o TDH foi de 48 horas.

- Fase VI (490-540 dias): a única mudança, com relação à Fase V, foi o aumento do TDH a fim de verificar se haveria melhoria de eficiência de remoção de DQO.
- Fase VII (559-589 dias): nessa fase foi diminuída a porcentagem AP para cerca de 5%. A DQO do ES foi de cerca de 250 mg/L no Reator A. No Reator B foi usada apenas a AP diluída em água, na mesma porcentagem do Reator A, mas com a suplementação de macro-nutrientes, usando cloreto de amônia (NH_4Cl) e fosfato de potássio (K_2HPO_4), a fim de manter a proporção DQO:N:P de 300:5:1 das fases anteriores.

- Fase VIII (589-608 dias): Igual à fase anterior, mas o substrato utilizado no Reator A foi metanol. Nos dois reatores foi necessária a suplementação de macro-nutrientes na proporção DQO:N:P de 300:5:1.
- Fase IX (608-632 dias): Os dois reatores receberam metanol com a mesma DQO (250 mg/L) e AP em torno de 5%. Com a finalidade de verificar a influência da condição nutricional, a suplementação de macro-nutrientes no Reator A foi feita na proporção DQO:N:P de 100:20:2,7 e no Reator B de 100:5:1.

O esgoto sanitário sintético (ES) utilizado foi sempre igualmente preparado, para todos os ensaios e operação dos reatores das Fases I até VII, variando-se apenas as proporções para a obtenção da DQO desejada.

Todas as considerações nos resultados são realizadas com base na concentração de sódio presente na mistura afluente aos reatores e não no teor (em porcentagem) de AP adicionada, sendo este um apenas um valor aproximado.

O monitoramento das fases incluiu a determinação dos principais parâmetros físico-químicos, como pH, demanda química de oxigênio (DQO), ácidos orgânicos voláteis totais (AOV), alcalinidade total (Alc T), parcial (Alc P) e intermediária (Alc I), e nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_4$). Também foram realizadas as análises dos teores de cálcio, sódio e potássio em fotômetro de chama. Todas as análises foram realizadas com os mesmos métodos usados na caracterização.

4.2.5- Análise estatística

Os resultados obtidos no monitoramento das fases operacionais dos reatores tipo UASB foram submetidos à análise de variância com o objetivo de saber se as diferenças encontradas entre os parâmetros eram significativas e se a suplementação com potássio melhorou a eficiência do tratamento. Caso essas diferenças fossem significativas era empregado o teste de Tukey, entre as fases operacionais, e também entre os Reatores A e B.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado que caracteriza-se pelo fato das repetições dos tratamentos serem atribuídas a parcelas sem nenhuma restrição, isto é, o sorteio das repetições dos tratamentos é feito de forma casualizada e sem restrição em toda a área experimental. Sendo este delineamento ideal para estudos

laboratoriais. Considerando isso então, pôde-se adotar o modelo matemático (Equação 2).

$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$ (i = 1, 2, ..., I; j = 1, 2, ..., J) (Equação 2)

Em que:

Y_{ij} é a observação relativa a j-ésima repetição do i-ésimo tratamento;

μ é a média geral do experimento

τ_i é o efeito do i-ésimo tratamento

ε_{ij} é o erro experimental associado ao valor observado Y_{ij}

Desta forma a análise da variância foi determinada conforme os parâmetros da Tabela 4.7, utilizando o teste de F.

Tabela 4.7: Análise da variância (ANOVA).

Fontes de Variação	**Graus de Liberdade**	**Soma dos Quadrados**	**Quadrado Médio**	**F_0**
Tratamentos	I -1	SQT	SQT/(I-1)	QMT/QMR
Resíduo	I(J -1)	SQR	SQR/[I(J-1)]	
Total	IJ – 1	SQ Total		

Em que:

I= Número de tratamentos

J= Número de repetições

SQT= Soma do Quadrado Total

SQR= Soma do Quadrado Resíduo

QMT= Variância do tratamento

QMR= Variância do resíduo

Sabe-se que o teste de F, sugerido anteriormente, somente indica se as médias dos tratamentos diferem ou não estatisticamente e desta forma faz-se necessário o teste de comparações de médias para definir em quais contrastes as diferenças são realmente significativas. Para este estudo foi escolhido o teste de Tukey que é baseado na equação:

$$\Delta = \frac{q.s}{\sqrt{J}} = q\sqrt{\frac{QMR}{J}} \qquad \text{(Equação 3)}$$

Em que:

Δ = Diferença mínima significativa (DMS)
q = Amplitude total estudentizada
s = Desvio padrão residual
J = Número de repetições

4.3- Testes de biodegradação aeróbia

O estudo de degradabilidade aeróbia foi realizado em batelada com lodo de inóculo (concentração variada) e sem uso de inoculação (controle). No ensaio com inoculação o lodo usado foi oriundo de uma estação de tratamento de efluentes domésticos, cujo sistema operacional era de lodos ativados. No teste sem inóculo aeróbio, buscou-se avaliar o potencial degradativo dos microrganismos autóctones presentes e sua aptidão em um meio contendo oxigênio abundante como oxidante.

Nesse experimento foram realizadas duas baterias de testes para cada condição, usando em cada bateria seis reatores com volume total de cinco litros cada. A alimentação do oxigênio foi realizada por mini compressores de ar (bombas de aquário), com duas saídas de ar para cada bomba e pedras difusoras (pedras porosas de aquário) ao fim da mangueira, em alturas diferentes, que visavam melhorar a transferência gás-líquido pela redução do tamanho das bolhas de ar. Os testes foram realizados em temperatura ambiente (30ºC ± 3ºC). Em cada batelada se seguiam 23,5 horas de aeração contínuas e 30 minutos de repouso para a coleta de amostra. Para o monitoramento as coletas para determinações de DQO e pH ocorreram em períodos de 24 horas, até 96 horas em função da evolução da redução da DQO observada em cada amostra retirada. A análise de $DQO_{filtrada}$ seguiu o método do Standard Methods (1995), utilizando-se uma membrana de filtração de 1,2 µm e 47 ± 0,5 mm (ME-28 da marca Scheucher e Schuell), com a modificação sugerida por Silva (2008).

A primeira condição estudada foi usando o afluente preparado para o reator B (AF B) na Fase VII, que era composto da AP diluída em água (cerca de 5%, ou média

de 3.387 mgNa^+/L), com a suplementação de macro-nutrientes, (usando cloreto de amônia (NH_4Cl) e fosfato de potássio (K_2HPO_4) na proporção DQO:N:P de 300:5:1. O teste foi feito com 2 litros do afluente em cada reator, sendo um sem lodo de inóculo, um com 0,5 L de lodo e um com 1 L de lodo. Da mesma forma usou-se o efluente do Reator B no final da Fase VII (EF B), a fim de verificar se após o tratamento anaeróbio os resultados seriam melhores.

Na segunda condição foi modificado apenas o substrato, onde se utilizou metanol na AP diluída também em cerca de 5%, com a mesma suplementação nutricional na proporção de DQO:N:P de 300:5:1.

4.4- Acompanhamento da biomassa e da mudança da morfologia na manta de lodo dos reatores UASB ao longo das fases operacionais

A avaliação do lodo biológico acumulado nos reatores foi baseada na concentração de sólidos totais voláteis (STV), considerando-se que valores crescentes de STV correspondem a concentrações mais elevadas de microrganismos. Como parâmetro comparativo foi usada a razão entre as concentrações de sólidos totais voláteis e sólidos totais (STV/ST) das amostras retiradas da manta de lodo dos reatores no final das fases operacionais.

Para microscopia em contraste de fase, foi utilizado o microscópio ótico Nikon Eclipse E-200 com o programa de captura de imagens Nis-Elements F-30. O desprendimento celular para a preparação das lâminas para a observação em microscópio ótico foi feito com o lodo, previamente macerado em almofariz, agitado durante 20 minutos em tubo de Falcon de 100 mL com pérolas de vidro. As lâminas destinadas a observação foram preparadas com amostras a fresco, colocadas sobre solução de ágar a 2%, previamente solidificado. Para essa observação microscópica foi utilizada a técnica de preparação de lâminas descrita pela DSM7 (1991) citada por Vazoller (1995). Solução ágar 2% foi aquecida por aproximadamente 1 minuto em forno microondas e distribuída uniformemente sobre a lâmina de vidro. Após solidificação do ágar, foi colocada a alíquota da amostra com pipeta Pasteur e esta recoberta com lamínula. Essa técnica possibilitou que o excesso de água da amostra fosse absorvido pela solução gelatinosa do ágar, otimizando a qualidade da observação. Esse método também foi usado por Hirasawa (2003).

Para uma melhor visualização das amostras de lodo, utilizou-se o corante DAPI (4',6-diamidino-2-fenil indol; Sigma). O DAPI é um corante para DNA, que permite visualizar facilmente a morfologia dos microrganismos presentes no lodo através de observação microscópica.

Para a realização dessa análise a amostra de lodo bruto foi previamente macerada em almofariz. Duas porções, com 20µL cada, foram colocadas na lâmina e postas para secar em estufa bacteriológica, a 46 ± 2ºC, por 15 minutos. Em seguida, a lâmina foi imersa numa seqüência de três soluções de etanol (50, 70 e 100%) por 3 minutos, deixando secar ao final. Em seguida, cada porção da amostra foi tingida com 10 µL da solução de DAPI (1 mg/mL) por 3 minutos em temperatura ambiente e na ausência de luz. Logo após, a lâmina foi imersa em água ultrapura altoclavada e depois imersa em etanol a 80% e por último, seca à temperatura ambiente.

Após a secagem da lâmina, foram colocados 2 µL de solução glicerol/PBS (80/20, v/v), em pH maior que 8,5 sobre cada uma das porções. Em seguida, cada porção da lâmina foi protegida por lamínula. A lâmina foi armazenada a -20ºC e protegida da luz, até o momento da visualização microscópica. Esse tratamento serviu para evitar o branqueamento das células devido à exposição prolongada à luminosidade durante a microscopia. Para a observação das células coradas com DAPI, utilizou-se um filtro específico, com excitação na região ultravioleta (UV) do espectro.

Para a visualização dessas lâminas foi utilizado o microscópio de epifluorescência LEICA® DMRB, com o programa de aquisição e tratamento de imagens IM50. As lâminas foram visualizadas e fotografadas no Laboratório de Citogenética Vegetal do Departamento de Botânica da UFPE.

Para a construção das tabelas de frequências da caracterização morfológica foram capturadas imagens de cerca de 15 campos microscópicos aleatórios de cada amostra e armazenadas em microcomputador. Em seguida, foram estimadas visualmente as frequências das morfologias em cada campo. As tabelas auxiliaram na obtenção de uma estimativa dos microrganismos presentes.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo é mostrada a caracterização da área de estudo, também são apresentados e discutidos os dados obtidos na caracterização físico-química e cromatográfica da AP, além dos resultados alcançados durante o monitoramento dos reatores anaeróbios tipo UASB e os obtidos nos testes complementares de biodegradação aeróbia e anaeróbia. Logo após, os resultados microbiológicos são analisados e comparados, de acordo com as fases operacionais dos reatores UASB.

5.1- Caracterização

5.1.1- Área de estudo

Toda a AP na UN-SEAL é tratada através de flotadores e re-injetada nos poços. Ainda, segundo a Petrobras, este efluente teria alta salinidade e alta concentração de metais alcalinos, alcalinos terrosos e pesados (CASTRO et al., 2007). A flotação remove apenas resíduos particulados, óleos e graxas, sendo o processo pouco eficiente para remoção de sais e metais. A re-injeção desta água, não devidamente tratada, pode provocar a incrustação e corrosão dos dutos além da obstrução e diminuição da porosidade do subsolo, diminuindo a produção e o tempo de vida dos poços.

O fluxograma simplificado do Ativo Pilar-Alagoas é mostrado na FIG. 5.1. Os pontos em vermelho marcam os locais iniciais de coleta e foram escolhidos de maneira aleatória, mas depois de observações feitas na UN-SEAL e também de acordo com os resultados obtidos numa primeira caracterização exploratória foram definidos novos pontos de coleta até o ponto escolhido para a pesquisa.

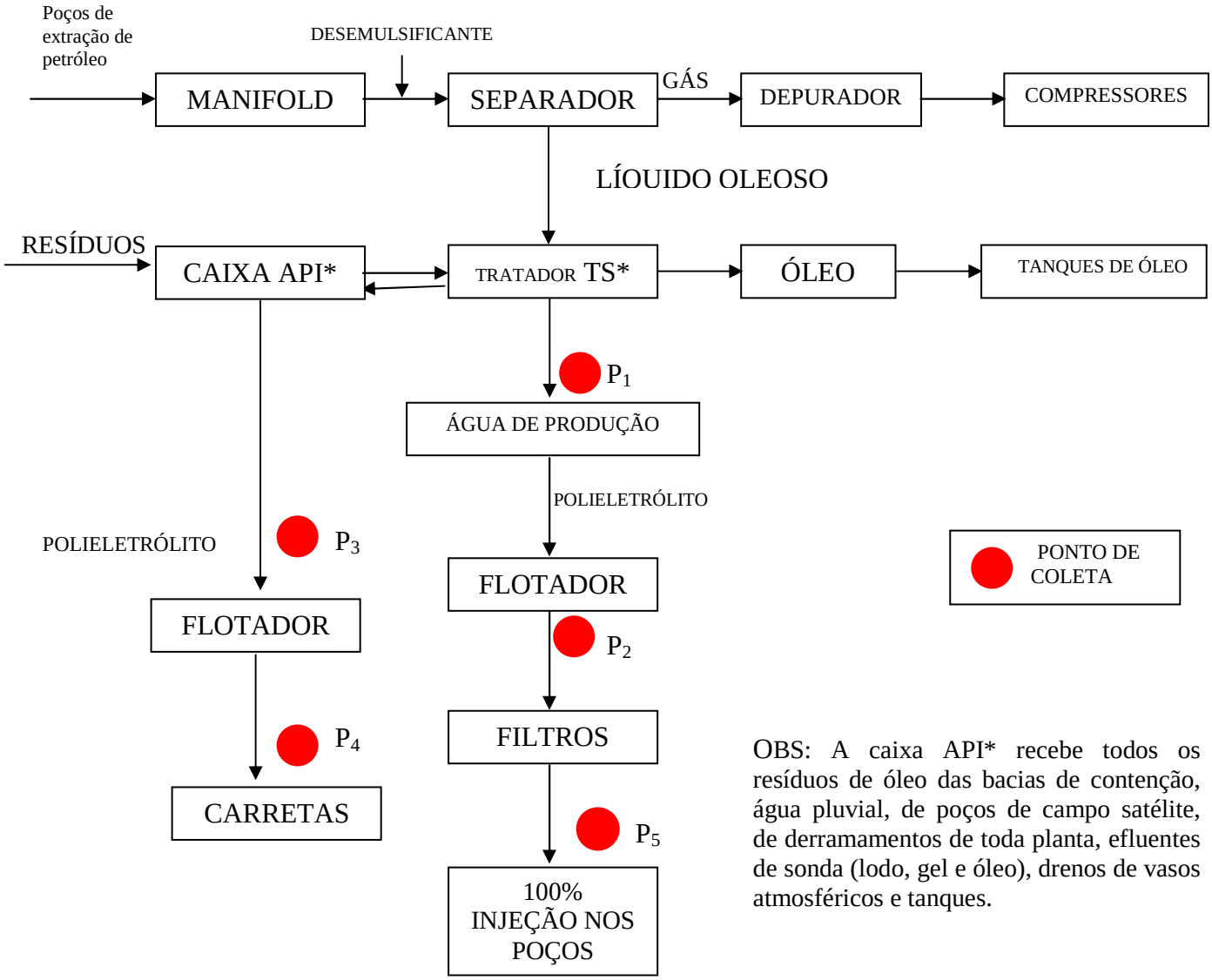


Figura 5.1: Fluxograma simplificado da planta da estação de tratamento de efluentes do Ativo Pilar-Alagoas. *Caixa API: Separador água e óleo do tipo API. *Tratador TS: Tratamento tipo termoquímico.

O ponto P_1 (FIG. 5.1) corresponde à saída dos tratadores termoquímicos e é o local onde se obtém a água de produção *in natura*. Neste ponto a água foi separada do óleo sem nenhum acréscimo de reagentes e a partir dele toda água de produção era enviada para o flotador. O P_2 é a saída do sistema de flotação e foi descartado como ponto de estudo por receber influência do coagulante adicionado ao efluente.

Outros pontos analisados foram: as entrada e saída da caixa API, ou caixa separadora de água e óleo, que é o local que recebe todos os resíduos de óleo das bacias de contenção, água pluvial, dos poços de campo satélite, de derramamentos de toda a planta, efluentes de sonda (lodo, gel e óleo), drenos de vasos atmosféricos e tanques;

estes resíduos não são gerados regularmente, e por isso algumas características da AP variam bastante. Os pontos P_3 e P_4 (antes e depois da caixa API), não pertencem ao esquema atual, são pontos com características muito distintas e com elevadas concentrações de óleos. Devido à essas características eles não se mostraram viáveis para este estudo. Porém, são pontos que merecem atenção por sua complexidade.

O ponto P_5 está localizado na saída de filtros biológicos que, na época das coletas, estavam sem uso adequado e por isso possuíam características semelhantes ao ponto P_2. Após o tratamento no flotador a água de produção passa por tanques pulmões onde é transportada para a re-injeção nos poços de extração, em busca de maior eficiência de explotação.

No início desta pesquisa, o sistema de flotação instalado nesta unidade ainda não conferia a AP as características desejadas e por este motivo a equipe de monitoramento da UN-SEAL se empenhou em um melhoramento, o que gerou diversas modificações na configuração física da planta a partir dos tratadores.

É válido ressaltar que é neste ponto (P_2) que a AP recebia a adição de um produto bactericida, porém a coleta sempre era realizada imediatamente antes desta adição.

No ponto P_4 a DQO foi bastante elevada e conforme informações locais vêm recebendo efluentes de características bastante variáveis de toda a ETE industrial. O P_2 é a saída do sistema de flotação e após esta caracterização pôde-se confirmar que a eficiência deste sistema realmente não era satisfatória. A remoção de DQO, por exemplo, não se mostrou significativa exibindo eficiência de aproximadamente 15%.

O ponto P_1 apresentou a água de produção *in natura* e foi escolhido como ponto de coleta dentro da ETE por não receber a influência do floculante utilizado no sistema de flotação e para uma possível sugestão de substituição deste sistema de tratamento pelo tratamento biológico.

Nas duas primeiras coletas realizadas, foram escolhidos e caracterizados os 5 pontos, vistos na FIG. 5.1. De acordo com as suas características e também por algumas mudanças na configuração da Unidade, optou-se por trabalhar com o ponto onde a água de produção era encontrada *in natura,* obtida na saída dos tratadores (ponto P_1), a fim de manipular a AP sem as adições de produtos químicos e/ou outros efluentes da estação, evitando assim possíveis interferentes.

O ponto P_5 não foi coletado por apresentar características semelhantes ao ponto P_2. O ponto P_3 se mostrou inadequado às metodologias de caracterização utilizadas

nesse trabalho, devido a grande viscosidade e concentração de óleos, similar a uma borra.

Na Tabela 5.1 são exibidos os resultados da caracterização físico-química da AP coleta nos pontos P_1, P_2 e P_4.

Tabela 5.1: Caracterização da AP coleta nos pontos P_1, P_2 e P_4 durante a primeira coleta.

PARÂMETROS	UNIDADE	P_1	P_2	P_4
DQO	mg/L	8.510	7.216	11.059
Fenóis totais	mg/L	0,072	0,066	0,123
pH	---------	5,8	5,9	5,7
Condutividade	ms/cm	196	201	155
Nitrogênio total	mg/L	101,8	104,1	65,6
Nitrogênio Amoniacal	mg/L	24	42	38
Temperatura	ºC	57,9	53,0	52,8
Cloretos	mg Cl^-/L	98.500	102.250	105.750
Alcalinidade parcial	mg $CaCO_3$/L	13	-	620
Alcalinidade total	mg $CaCO_3$/L	67	79	-
AOV	mg/L	85	122	107
Sólidos Totais (ST)	mg/L	53.922	53.709	53.827
ST Fixos	mg/L	41.037	42.347	42.014
ST Voláteis	mg/L	12.672	11.574	11.812

(-) análise não realizada.

5.1.2- Água de produção de petróleo

Para a caracterização físico-química e cromatográfica da AP foram realizadas coletas regulares na Unidade de Negócios de Exploração e Produção Sergipe e Alagoas (UN-SEAL) da cidade de Pilar em Alagoas. No início do projeto, as coletas eram realizadas com o veículo do LSA. Porém, esse sistema se mostrou inadequado, devido à distância (290 km). Então foi estabelecida uma parceria com o CENPES, e a própria UN-SEAL passou a enviar mensalmente, via terrestre, cerca de 100 L da amostra. Na Unidade são gerados em média 430 m^3 de água de produção por dia (ANP, 2008).

As amostras recebidas no LSA foram caracterizadas imediatamente respeitando-se os períodos de estocagem previstos no Standard Methods of Wastewater (1995). Após a caracterização foram armazenadas em geladeira para uso nos reatores e testes em batelada, sendo re-caracterizadas de acordo com o uso. A Tabela 5.2 mostra os valores máximos, mínimos, médios, além do desvio padrão e o coeficiente de variação

determinados para os parâmetros avaliados nas amostras das 13 coletas realizadas no Ponto P_1 no período de julho de 2007 até março de 2009.

Tabela 5.2: Resumos das características físico-químicas obtidas para a AP no ponto P_1 em 13 coletas realizadas de julho de 2007 até março de 2009.

ANÁLISE	UNIDADE	MÉDIA	MÁXIMO	MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	NÚMERO DE AMOSTRAS	COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (%CV)
DQO	mg O_2/L	5.412	9.140	3.092	1.938	13	35,8
Cloretos	mg Cl^-/L	108.802	145.000	86.926	15.694	13	14,4
Salinidade	mg NaCl/L	179.524	239.250	143.428	25.895	13	14,4
pH	-	5,8	6,4	5,4	0,3	13	4,3
Alcalinidade Parcial	mg $CaCO_3$/L	10	36	0	11	13	110,4
Alcalinidade Total	mg $CaCO_3$/L	78	135	46	23	13	30,1
Nitrogênio Total	mg N/L	87	189	34	41	12	47,7
Nitrogênio Amoniacal	mg N-NH_4/L	44	104	15	33	12	73,8
AOV	mg/L	92	193	21	57	13	62,5
Teor de óleos e graxas (TOG)	mg/L	267	787	81	258	11	96,7
Sólidos Totais (ST)	mg/L	167.255	228.048	53.709	59.440	13	35,5
ST Fixos	mg/L	143.466	210.918	41.037	54.233	13	37,8
ST Voláteis	mg/L	26.058	51.580	11.811	12.886	13	49,5
Cor Aparente	mg Pt-Co /L	315	1.200	100	273	13	86,7
Cor Verdadeira	mg Pt-Co /L	24	70	5	21	13	88,1
Turbidez	NTU	314	541	200	101	13	32,2
Sulfato	mg SO_4^{2-}/L	91	204	15	45	12	49,3
Dureza Total	mg $CaCO_3$/L	40.344	55.600	32.400	6.468	12	16,0
Dureza Cálcio	mg $CaCO_3$/L	30.906	39.800	21.578	5.183	12	16,8
Dureza Magnésio	mg $CaCO_3$/L	9.438	19.200	5.600	3.872	12	41,0
Sódio	mg Na^+/L	46.474	63.200	11.000	15.148	11	32,6
Cálcio	mg Ca^{2+}/L	12.362	15.920	8.631	2.073	12	16,8
Potássio	mg K^+/L	2.162	4.200	1.330	956	9	44,2
Magnésio	mg Mg^{2+}/L	2.301	4.673	1.368	940	12	40,9
Ferro	mg/L	58	85	37	14	12	23,3
Fenóis totais	mg/L	0,08	0,15	0,05	0,03	12	40,6
Somatório BTEX	mg/L	15,82	25,43	4,71	10,44	6	66,0
Benzeno	mg/ L	10,09	16,53	3,35	6,60	6	65,4
Tolueno	mg/ L	4,23	7,25	0,31	3,56	6	84,1
Etilbenzeno	mg/ L	0,41	0,49	0,27	0,12	6	29,7
Xilenos	mg/ L	1,09	1,32	0,78	0,28	6	25,5

Observa-se na Tabela 5.1 que a temperatura da AP em todos os pontos analisados foi superior a 50 ºC, já que AP era oriunda dos tratadores termoquímicos. Como a amostra era recebida em laboratório (LSA), este parâmetro não pode ser medido no local. Mas, segundo o responsável pela coleta na UN-SEAL, a temperatura se situava sempre em torno de 50 ºC. A elevada temperatura da AP na saída dos tratadores termoquímicos também é constatada para a AP de Curimã, se situando em torno dos 70 ºC (GABARDO et al., 2005).

Para a caracterização físico-química da AP, no tocante à classificação dos compostos orgânicos presentes na AP considerou-se: representando os hidrocarbonetos dispersos a análise do teor de óleos e graxas (TOG) e HPAs; representando os hidrocarbonetos dissolvidos, os BTEX; e para os compostos orgânicos dissolvidos os representantes foram os fenóis totais (OGP, 2005).

Com relação à análise dos hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs), das 13 coletas realizadas para a caracterização da AP foram analisadas as 11 últimas amostras coletadas, e 9 delas mostram picos nos cromatogramas. O método usando o HPLC permite analisar 15 dos 16 HPAs considerados prioritários pelo EPA, mas nem todos foram detectados nas amostras e os que foram apresentaram valores considerados irreais (muito altos), por isso só o resultado qualitativo é apresentado. O gráfico (FIG. 5.2) mostra a distribuição de frequência nas amostras.

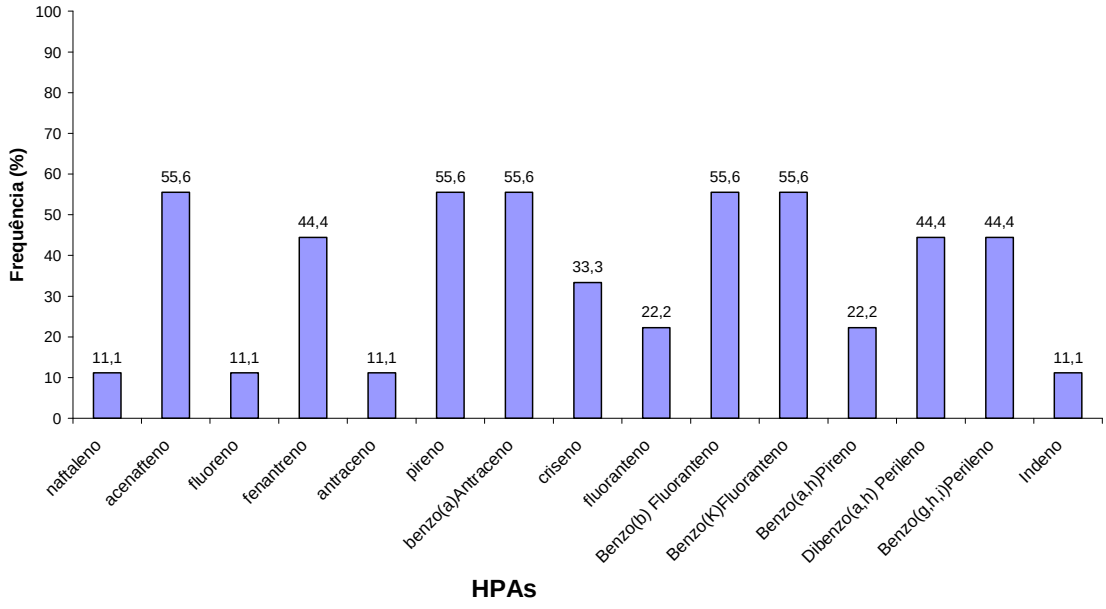


Figura 5.2: Freqüência de ocorrência dos HPAs nas amostras de AP analisadas.

Os HPAs que foram detectados na maioria das amostras (55,6%) foram o acenafteno, pireno, benzo(a)antraceno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno.

Como os resultados encontrados não contemplavam a visualização dos 15 HPAs provavelmente presentes e mostravam valores muito altos, foi constatado que a metodologia não se aplicaria para a água de produção de petróleo, ou que o método de *cleanup* não foi adequado. Na AP provavelmente existem outros HPAs e contaminantes que são co-extraídos com os HPAs analisados, levando a essas interferências nos resultados.

Reforçando a interferência dos componentes do petróleo na análise por HPLC, Weisman (1998) cita que, por exemplo, há cinco metilfenantrenos e mais de 20 dimetilfenantrenos no petróleo. Também é dito que por muito tempo, após o período de retenção do fenantreno, os alquil-fenatrenos irão interferir, afetando as medições de todos os HPAs eluídos depois dele.

Pesquisando sobre a metodologia usada para análise de HPAs, não foram encontrados relatos empregando essa metodologia para AP. O HPLC foi utilizado pelo fato desse equipamento e método serem bastante indicados para a determinação de HPAs em outras matrizes líquidas e ambientais (HESSELINK, 1995; LIU e LEE, 1997; MARCE e BORRULL, 2000), além de ser o equipamento disponível no laboratório de pesquisa (LSA).

O método mais comum indicado e utilizado para derivados de petróleo é citado pelo EPA, através do uso de cromatógrafo gasoso acoplado com espectrometria de massa (GC-MS). Exemplificando, Utvik (1999), analisou amostras de água de produção no mar do Norte; Bento (2005) trabalhou especificamente com a degradação de hidrocarbonetos de óleo diesel; Gabardo (2007) realizou testes com água de produção e atestou a qualidade analítica do GC-MS pela recuperação do padrão interno adicionado ao início do processo da extração, que evidenciaram a homogeneidade dos dados; Dórea et al. (2007) também fizeram uso do GC-MS para analisar a água de produção de Carmópolis (Sergipe-Brasil), com concentrações individuais de HPAs de 0,9 a 10,3 μg/L e HPAs totais de 37,4 μg/L; e por fim Pinhata (2008) que pesquisou resíduos de refinaria de petróleo. Além de fazer uso do GC-MS, Pinhata (2008) também cita que a metodologia é usada pelo grupo de tratamento e reuso de efluentes hídricos do CENPES/PETROBRAS.

Para o somatório dos hidrocarbonetos aromáticos avaliados (BTEX) foram observadas variações de 66% durante as coletas. As concentrações de benzeno

determinadas (média de 13,46 mg/L) mostraram-se bastante elevadas em relação ao valor máximo de 4,6 mg/L encontrado por Utvik (1999) - Poço Oseberg F e C. O valor médio de tolueno (6,19 mg/L) também é maior que o citado pelo mesmo autor em outro poço (Poço Brage). Na Tabela 5.3 são vistos os dados de BTEX encontrados por Utvik (1999) em diversos poços no mar do Norte.

Tabela 5.3: Resultados de BTEX e fenóis totais em diversos poços no mar do Norte.

COMPONENTE / CAMPO	BRAGE	OSEBERG F	OSEBERG C	TROLL	PRESENTE PESQUISA
Somatório BTEX	**9,0**	**8,3**	**5,8**	**2,4**	**15,82**
Benzeno (mg/L)	4,5	4,6	3,7	0,8	10,09
Tolueno (mg/L)	3,5	2,7	1,5	1,0	4,23
Etilbenzeno (mg/L)	0,3	0,6	0,3	0,4	0,41
Xileno (mg/L)	0,7	0,4	0,2	0,2	1,09
Fenóis totais (mg/L)	6,12	11,45	10,96	0,58	15,82

Fonte: Utvik (1999) e Presente Pesquisa.

Comparando-se também as médias de BTEX encontradas (13,46; 6,19; 0,48; 1,24 mg/L, respectivamente) com os dados obtidos em Carmópolis, Sergipe- Brasil, por Dórea et al. (2007), 1,40; 1,30; 0,20; 0,30 mg/L, respectivamente) nota-se teores bem mais elevados, e reforçando-se que ainda inferiores aos obtidos por Utvik (1999).

Em relação aos fenóis totais encontrados, pôde-se constatar que as concentrações determinadas para a AP em estudo (média de 0,08 ± 0,03 mg/L) estavam bem mais baixas que os valores descritos por Freire (1999), Campos et al. (2002), Vieira et al. (2004), Santos (2006) e Gabardo et al. (2005) (2,7; 4,3; 1,9; 1,8 e 2,0 mg/L, respectivamente). Vieira (2003) encontrou valores mais baixos 0,25 mg/L para a AP de Carmópolis, mas mesmo assim foram superiores aos encontrados.

Outro aspecto que merece destaque, em relação a este parâmetro, é que para todas as coletas os valores obtidos estavam bem abaixo do limite de lançamento de efluentes proposto pela resolução CONAMA n° 357 (0,5 mg/L C_6H_5OH).

No trabalho de Gabardo (2007) foram obtidos valores mais altos de fenóis pela técnica colorimétrica do que pelo uso da cromatografia gasosa. O autor sugere que outros compostos que também possuam a capacidade de reagir com 4-aminoantipirina podem estar sendo quantificados através deste método e, portanto as concentrações ficam mais altas. Sendo assim, provavelmente os valores reais encontrados nessa pesquisa seriam ainda mais baixos. Utvik (1999) usando cromatografia, encontrou em 3 poços valores muito altos de fenóis totais (Tabela 5.3), chegando a 11,45 mg/L.

Em Gabardo (2007) para uma amostragem de cerca de 50 amostras, as medianas de concentração de BTEX, HPAs e fenóis foram respectivamente 4,60 mg/L, 0,53 mg/L e 1,30 mg/L. Nos casos de maior produção de gás as concentrações de monoaromáticos (BTEX de 15,8 a 21,6 mg/L) e fenóis (2 a 83 mg/L) foram mais elevadas do que nas plataformas de óleo (concentrações medianas de BTEX de 4,6 mg/L para n= 53, e de fenóis de 1,3 mg/L, para n= 46).

A metodologia empregada para os óleos e graxas (extração a quente) é amplamente utilizada para efluentes oleosos, não demonstrando dificuldades de uso, ou interferentes, mesmo com a AP sendo muito salina. Os valores relacionados ao teor de óleos e graxas (TOG) apresentam-se dentro do esperado, já que visualmente não se tratavam de amostras com grandes concentrações de óleos. Porém, a média obtida (267 ± 258 mg/L) é maior que os valores citados na literatura consultada (Tabela 3.1), sendo bem parecida com o valor obtido por Campos (2002) que foi de 220 mg/L. Caso essa AP fosse descarregada no mar o valor estaria muito acima do estabelecido pela resolução CONAMA n° 357 para padrões de lançamento (20 mg/L) e pela CONAMA n° 393 (valor máximo diário de 42 mg/L).

Em concordância com OGP (2005) e UTVIK (1999), não foi observada uma correlação entre o teor de óleos e graxas, com o teor de compostos aromáticos na água produzida em estudo. Os maiores valores de óleos e graxas encontrados não coincidiram com os maiores valores de BTEX e fenóis, ou com as maiores porcentagens de HPAs.

No trabalho de Castro et al. (2007) os dados são de uma amostra coletada na Unidade em um período bastante próximo ao da coleta anteriormente citada e servem como complemento aos dados que infelizmente não puderam ser determinados neste trabalho, como bário, brometo e estrôncio. Assim como para os outros parâmetros, estima que esses valores estejam na mesma ordem de grandeza. Na Tabela 5.4 é feita uma comparação entre os valores médios, dos parâmetros comuns, da caracterização realizada no trabalho de Castro et al. (2007), e nessa pesquisa, ambos no mesmo ponto de coleta.

Tabela 5.4: Comparação entre os valores médios dos parâmetros comuns entre a caracterização realizada na pesquisa e o trabalho de Castro et al. (2007), ambos no mesmo ponto de coleta (P_1).

PARÂMETRO	CASTRO et al., 2007	ÁGUA DE PRODUÇÃO ESTUDADA
pH	5,8	5,8
Cloretos (mg Cl^-/L)	106.000	108.802
Salinidade	174.908	179.524
Na^+ (mg/L)	48.170	46.474
Ca^{2+} (mg/L)	12.993	12.362
K^+ (mg/L)	2.084	2.162
Mg^{2+} (mg/L)	1.375	2.301
Ferro (mg/L)	48	58
Sulfato (mg SO_4^{2-}/L)	58	91
Bicarbonato (mg/L)	141	78

Assim na presente pesquisa, no trabalho de Castro et al. (2007) a análise das amostras da AP de Pilar apresentaram elevado teor de cálcio e alta salinidade, onde a salinidade também foi o parâmetro de maior destaque.

Esta comparação (Tabela 5.4) mostra que a AP não apresentou variações significativas durante as 13 coletas realizadas no período desta pesquisa (julho de 2007 até março de 2009). À exceção do sulfato e magnésio, com maiores valores médios e bicarbonato com uma menor média. Na pesquisa de Castro et al. (2007) os cátions foram determinados pela técnica de espectroscopia de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), e a determinação de sulfato foi realizada por cromatografia de íons. Observa-se que mesmo com o uso de técnicas e procedimentos menos precisos, como a análise de cátions (Na^+, Ca^{2+} e K^+) por fotômetro de chama, os resultados médios são praticamente os mesmos. Como o magnésio foi determinado por estequiometria com resultados de dureza (método titulométrico) este cátion apresentou maior valor médio. Isso vem a indicar que o método pode levar a erros positivos. O uso da análise de sulfato por turbidimetria proporcionou valores médios pouco maiores (91 mg/L), devido principalmente as altas diluições empregadas para a análise e as interferências da matriz salina.

É evidente a presença de ferro na água de produção de Pilar, possivelmente associada à corrosão ao longo do sistema, onde pôde-se observar uma diferença considerável tendo-se valores de 0,56 a 48 mg/L (CASTRO et al., 2007). Avaliando o trabalho de Gabardo (2007) para 50 amostras analisadas a mediana de ferro foi de 7,4 mg/L, muito inferior aos valores encontrados nessa pesquisa (média de 58 mg/L e

máximo de 85 mg/L), confirmando a questão de incrustações da Unidade. Já nas duas estações estudadas por Pimentel (2005) para o elemento ferro os resultados da AP variaram de 22,6 até 199,8, sendo esse o metal com maior concentração na maioria das amostras.

Como a água de produção apresentou pH em torno de 6 e a maioria dos metais pesados precipitam a valores mais baixos ou iguais a esses valores, então a concentração residual de metais pesados presentes pode ser explicada pela presença dos ânions (tais como cloretos, sulfatos, etc) que concorrem com o OH na formação de complexos.

Na pesquisa as análises de metais pesados não foram realizadas, pois devido a salinidade da amostra o método por absorção atômica não seria indicado. Como demonstrou Pimentel et al. (2008), o método de fluorescência de raios X por reflexão total com radiação síncrotron, seria o adequado para identificação e quantificação dos metais presentes numa água de produção salina, como a estudada. A escolha dessa técnica seria justificada por ser especialmente adequada para determinação de elementos traços e ultratraços, a combinação desta técnica com procedimentos de separação e concentração apropriados permitiu a determinação de elementos traço mesmo em águas com alta matriz salina e conteúdo orgânico, como a água de produção.

Em comparação com os dados encontrados na literatura (Tabela 3.1) verifica-se que os valores de DQO obtidos para a AP estudada eram consideravelmente mais elevados que os anteriormente citados. Nas coletas observou-se um valor mínimo de DQO de 3.092 e máximo de 9.140 mg O_2/L, bem superior ao máximo obtido por Vieira et. al. (2004) de 4.730 mg O_2/L (Bacia de Campos). Os autores também utilizaram uma metodologia adaptada para esta determinação.

O principal parâmetro que diferenciou e aumentou a complexidade da AP estudada foi a sua concentração de cloretos (média de 107.881 mg/L, mínimo de 86.926 mg/L e máximo de 145.000 mg/L), que é praticamente três vezes maior que valores encontrados por Freire (1999) e Campos et al. (2002), na Bacia de Campos no Rio de Janeiro. Em Carmópolis (Sergipe) Dórea et al. (2007) encontraram valores ainda menores de cloretos, com média de 17.800 mg/L. Em comparação com os valores obtidos na literatura para a AP de Pilar, o mínimo foi de 47.653 mg/L determinados por Santos (2006) e o máximo foi de 106.000 mg/L determinados no ponto P_1 por Castro et. al. (2007), então pôde-se constatar uma diferença realmente expressiva em relação a água de produção. Com relação aos íons que se ligam ao Cl^- livre o sódio apareceu em maior quantidade, seguido pelo cálcio, magnésio e potássio. Essa elevada concentração

de cloretos encontrada foi preocupante no tocante a proposta de tratamento biológico, apesar de serem conhecidos microrganismos extremófilos resistentes a concentrações de sais elevadas, além dos processos adaptativos.

Para um possível tratamento biológico da AP bruta, o pH necessitaria de correção, pois foi na maioria das análises abaixo de 6. Relacionado ao pH, a alcalinidade da AP apresentou valores muito baixos para as necessidades de tratamentos anaeróbios, principalmente no que diz respeito à alcalinidade a bicarbonato (alcalinidade parcial) chegando a valores de nulidade. Isso poderia causar problemas nas condições de operação de reatores, pois necessitam de alcalinidade para estabilizar o processo. Como dito, esta carência está diretamente relacionada aos baixos valores de pH encontrados. Tal parâmetro serve para o tamponamento do sistema biológico conhecido pela geração de ácidos.

No estudo de Gabardo (2007), o pH das APs no Brasil oscilou na faixa de 6,1 a 8,2. A média obtida em Pilar foi de 5,9, caracterizando o solo ácido e pobre da região. Segundo Di Bernardo (2005), o pH e a alcalinidade podem variar substancialmente dependendo do tipo de solo que estava em contato com a água; e a quantidade de sais de cloretos e sulfatos caracteriza os sólidos totais dissolvidos presentes na amostra.

Torna-se importante a diferença entre alcalinidade a bicarbonato (parcial) e alcalinidade total. A diferença média foi de 68 mg/L. A alcalinidade parcial está diretamente relacionada à presença de íons bicarbonato, responsáveis pelo tamponamento do sistema, ou seja, que se atinja o pH ideal às atividades microbianas. Já a alcalinidade total, engloba os processos de neutralização dos ácidos presentes no efluente (SPEECE, 1996).

Os fatores nutricionais influenciam todas as etapas da degradação biológica, por isso a relação DQO:N:P é muito importante, pois serve de base para uma avaliação da necessidade da adição de nitrogênio e fósforo durante o uso do resíduo num sistema biológico. Porém, a melhor relação nutricional para cada caso deve ser determinada empiricamente; até mesmo porque trabalhar com excesso de nutrientes pode causar inibição no processo biológico. Quanto ao nitrogênio a sua concentração, de acordo com a relação sugerida por Speece (1996) para carbono/nitrogênio (500:5) seria suficiente, para atender as necessidades de macro-nutrientes dos microrganismos anaeróbios, visto que para a concentração média de DQO (5.412 mgO_2/L) seriam necessários aproximadamente 54 mg/L de nitrogênio total e tinha-se uma média de 87 mg/L. Do nitrogênio total da AP, em média 50,6% estava na forma de nitrogênio amoniacal.

Através dos métodos constantes no Standard Methods (1995), mesmo com altas diluições, não foi conseguido determinar fósforo orgânico na AP.

Com relação a determinação de fósforo orgânico em águas de produção, Rocha et al. (1998) citam a indicação da análise por técnicas de Espectrometria de Emissão Atômica (AES) e de Espectrometria de Massa (MS), ambas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP). Mas, após pré-concentração em coluna de sílica, pois a salinidade do meio causa a perda de sensibilidade da técnica, além de outros problemas. Nesse trabalho (ROCHA et al., 1998) foi estudada a AP da bacia de Campos (Campo *offshore* de Namorado) onde os cloretos foram de 40.200 mg/L.

Como a AP estudada nessa pesquisa apresentou um teor de cloretos médio de 108.802 mg/L, a análise de fósforo não foi possível pelas metodologias disponíveis (STANDARD METHODS, 1995).

Os teores de ácidos orgânicos voláteis (AOV) (concentração máxima de 193 mg/L) tiveram alta variação (CV= 62,5%), porém foram bem abaixo dos valores encontrados na literatura onde se observa um valor mínimo de 300 mg/L, citado por Hansen e Davies (1994) e máximo de 1.135 mg/L citado por Utvik (1999) para o poço de Poço Oseberg F.

A determinação da série de sólidos também trouxe grande dificuldade pelo fato de se tratar de uma amostra com elevada concentração de cloretos, pode-se observar a elevada quantidade de sal acumulada na cápsula após o processo de secagem a 550 °C. Foi visto que aproximadamente 84% dos sólidos totais estão na forma de sólidos fixos, o que comprova a baixa quantidade de matéria orgânica em relação à inorgânica.

A cor e a turbidez são parâmetros normalmente problemáticos nos efluentes industriais; apesar da AP ser um efluente da cadeia petrolífera a sua coloração é bastante amarelada e com poucos vestígios que lembrem a coloração negra, típica do petróleo.

Visualmente a água de produção é um resíduo de coloração amarelada com tons mais escuros nas regiões de maior concentração de óleos, porém a divisão das fases entre óleo e água não é bem definida. Durante a realização das análises em laboratório buscou-se sempre agitar a amostra com o intuito de obter maior homogeneização. O método usado não seria o mais indicado para efluentes industriais, já que esses possuem colorações típicas. Sendo assim os resultados apenas indicam a mudança de intensidade da coloração das amostras analisadas.

Na FIG. 5.3 é vista a água de produção in natura e na FIG. 5.4 a AP após a análise de sólidos totais. Nelas observa-se uma grande quantidade de sais dissolvidos ilustrando a elevada concentração de íons cloretos.

Figura 5.3: Água de produção *in natura*.

Figura 5.4: Água de produção após a análise de sólidos totais.

A concentração de sulfatos foi bastante elevada, em relação aos valores típicos de APs, tendo média (91 ± 45 mg/L) com valor máximo superior aos 50 mg/L encontrados por Vieira et. al (2004).

Estes compostos podem ser utilizados como aceptores finais de elétrons, por microrganismos redutores de sulfato, e gerar uma competição com as bactérias metanogênicas reduzindo assim a produção de metano. Dentro dos processos industriais também causam problemas por serem agentes formadores de incrustações nos dutos da unidade.

A dureza está diretamente ligada à concentração de cloretos devido aos íons que os constituem. Através da determinação da dureza a cálcio e a magnésio pôde-se determinar estequiometricamente a concentração destes íons. Essa elevada quantidade de íons tem sido um problema de grande significância dentro da UN-SEAL, uma vez que estes íons também são responsáveis por incrustações nas tubulações da empresa e reduzem a vida útil dos dutos.

Em Pimentel (2005) o teor de potássio foi de 24.100 mg/L até 1.080 g/L e o de cálcio de 135 até 2.266 g/L. Um exemplo da composição de cátions e ânions em águas de rio, mar, intersticiais e de campos de óleo (g/L) pode ser visto na Tabela 5.5.

Tabela 5.5: Composição de cátions e ânions em águas de rio, mar, intersticiais e de campos de óleo (g/L).

	Água de rio	Água do mar	Água intersticial - Lodo[a]		Água de campos de óleo[b]	
			9,5 m	335 m	1570 m	1814 m
CÁTIONS (g/L)						
Na^+	0,006	10,8	10,5	7,8	53,9	57,0
K^+	0,002	0,4	0,4	0,3	-	-
Mg^{2+}	0,004	1,3	1,3	0,4	2,1	2,2
Ca^{2+}	0,015	0,4	0,4	2,7	15,0	18,0
ÃNIONS (g/L)						
Cl^-	0,008	19,4	19,6	23,4	115,9	126,0
SO_4^{2-}	0,011	2,7	2,8	2,8	0,1	0,07
HCO_3^-	0,059	1,4	0,1	0,05	0,05	0,06
TOTAL	0,105	36,4	35,1	37,4	187	203

Fonte: HUNT, 1995.
a: Água intersticial de sedimento lodo carbonático de perfuração em águas profundas nas Filipinas. Profundidade do sedimento abaixo do sedimento marinho
b: Sedimento arenoso da formação Tonkawa e Morrow (Texas e Oklahoma)

Os dados da caracterização para os cátions e ânions (Tabela 5.4) apontam para valores próximos aos de campos de óleo (Tabela 5.5), fato interessante, pois na Unidade a geração de óleo (542,72 milhões de m^3) é inferior a de gás (51,98 bilhões de m^3), segundo a ANP (2008).

A caracterização físico-química realizada buscou abordar os principais parâmetros físico-químicos que necessitam ser conhecidos para a avaliação da possibilidade de um tratamento biológico, bem como padrões de lançamentos de efluentes.

O alto coeficiente de variação obtido nas amostras coletadas na Unidade de Pilar/AL (Tabela 5.2) pôde ser atribuído à influências naturais das jazidas de extração de petróleo, a variações nas condições de extração ou influências externas, como água de chuva e possíveis vazamentos nas tubulações do sistema. Como a composição química da água de produção depende intrinsecamente da formação geológica à qual a água estava armazenada, bem como, de ações antropogênicas decorrentes das operações realizadas neste campo, consequentemente sempre haverão variações na composição qualitativa e quantitativa dos elementos presentes, conforme o momento no qual a AP está sendo coletada. Devido principalmente à alta salinidade, todos os parâmetros obtidos para a água de produção de Pilar tendem mais para um campo tipo *offshore*. Como já explicado, isso pode ser entendido pela forte dependência das características da AP com o campo gerador.

A avaliação dos dados da caracterização, a princípio, desencorajou o uso do sistema de tratamento biológico devido as grandes concentrações de sais dissolvidos (principalmente os cloretos), porém de acordo com os resultados obtidos nos trabalhos revisados usando antagonizantes, obteve-se uma boa expectativa para este tipo de tratamento.

Fazendo uso dos antagonizantes, Kugelman e McCarty (1965) sugeriram a adição de 24 mg K^+/L e de 12 mg Ca^{2+}/L para 600 mg Na^+/L. Basharat et al. (2004[a,b]), indicaram a concentração de 535 mg K^+/L para 8.000 mg Na^+/L e 500 mg Ca^{2+}/L para 6.000 mg Na^+/L.

Levando em consideração Kugelman e McCarty (1965) para antagonizar os efeitos do valor médio de sódio encontrado (46.474 mg Na^+/L) as concentrações de Ca^{2+} e K^+ necessárias seriam de 929,5 mg/L e 1.859 mg/L, respectivamente. Os valores determinados para estes parâmetros já ultrapassavam o necessário para minimizar este efeito (12.362 mg Ca^{2+}/L e 2.162 mg K^+/L). Porém, de acordo com Basharat et al. (2004[a,b]) seriam necessários 3.108 mg K^+/L e 3.872 mg Ca^{2+}/L, para esta mesma concentração de sódio. Os valores demonstram que a quantidade de K^+, nesse caso, seria insuficiente. Desta forma o uso de antagonizantes, principalmente o potássio, mostrou-se uma opção viável a ser usada no tratamento biológico da água de produção de petróleo em estudo.

5.1.3- Testes de ecotoxicidade

Para avaliação da toxicidade aguda da água de produção foram realizados dois ensaios, utilizando um copépodo harpacticóide bentônico, o microcrustáceo marinho *Tisbe biminiensis* (FIG. 5.5).

Figura 5.5: Copépodo *Tisbe biminiensis*.
Fonte: LACE.

Os ensaios de toxicidade aguda expressam o efeito de uma amostra sobre uma fase curta no ciclo de vida do organismo-teste. Nos ensaios realizados os resultados

foram expressos como CL50 que é a concentração que causou efeito letal em 50% dos organismos expostos à amostra. Desta forma, a toxicidade da amostra é inversamente proporcional ao valor da CL50, ou seja, quanto menor esse valor, mais tóxica é a amostra**.**

O dicromato de potássio foi a substância utilizada para estabelecer a carta controle, sendo para espécie, atualmente a substância de referência (ARAÚJO-CASTRO et al., 2009). Os ensaios feitos com a substância de referência tiveram o resultado dentro do esperado na carta controle, tornando o lote de indivíduos usado viável para os mesmos.

A Tabela 5.6 mostra os parâmetros de caracterização da amostra nas coletas utilizadas. Para essas coletas as análises BTEX não foram realizadas, mas estima-se que os valores se mantiveram na média daqueles constantes na Tabela 5.2 (somatório BTEX de 15,82 mg/L).

Tabela 5.6: Parâmetros de caracterização da amostra nas coletas utilizadas para os testes de ecotoxicidade.

ANÁLISES	**4º Coleta de AP**	**5º Coleta de AP**
Cloretos (mg Cl^-/L)	145.000	109.000
Salinidade (mg NaCl/L)	239.250	179.850
AOV (mg/L)	21	35
TOG (mg/L)	328	787
DQO (mg O_2/L)	5.707	9.140
Sulfato (mg SO_4^{2-}L)	99,4	203,7
Fenóis totais (mg/L)	0,046	0,120
Ferro (mg/L)	49,8	60,5
Nitrogênio (mg/L)	112	189
pH	5,8	5,5
Sódio	60.500	45.200
Cálcio	14.560	12.000
Potássio	3.000	2.300
Magnésio	1.891	4.673

Na amostra da 4ª coleta (valores médios) as diluições da AP seguiram as proporções de 5, 10 e 20%, ou seja, 7.250, 14.500 e 29.000 mgCl^-/L; e DQO de 285, 571 e 1.141 mgO_2/L, respectivamente.

Os ensaios realizados com a amostra da 5ª coleta (maiores teores de óleos, DQO e fenóis totais) também foram diluídos, porém optou-se pela adição de mais uma diluição e assim seguiu as proporções de 2,5; 5; 10 e 20%, ou seja, 2.725; 5.450; 10.900 e 21.800 $mgCl^-/L$; e DQO de 228, 457, 914 e 1.828 mgO_2/L, respectivamente.

Durante os ensaios também foi realizado o teste controle com 10 fêmeas incubadas sem a adição da água de produção, para serem utilizadas como controle. A sobrevivência dos organismos foi analisada a cada 24 horas, até um total de 96 horas.

Para o teste realizado com a AP da 4ª coleta, com a amostra diluída para 5% de AP a sobrevivência observada foi similar ao controle, tendo-se uma redução máxima de 1 fêmea por réplica analisada ao final do experimento. Na diluição de 10% após 96 horas cerca de 50% dos copépodos sobreviveram.

Os resultados indicaram alta toxicidade da AP ao organismo testado, pois utilizando apenas uma diluição com 20% da AP, nas primeiras 24 horas praticamente não foram observados indivíduos vivos, com a sobrevivência de apenas 3 fêmeas das 50 incubadas. A diluição de 20% correspondeu a 29.000 mg/L de cloretos e 1.141 mgO_2/L de DQO. A CL50 calculada com 96 horas foi de 9,64%.

A FIG. 5.6 mostra a porcentagem de indivíduos, ao longo do tempo, que sobreviveram ao teste para cada diluição da água de produção.

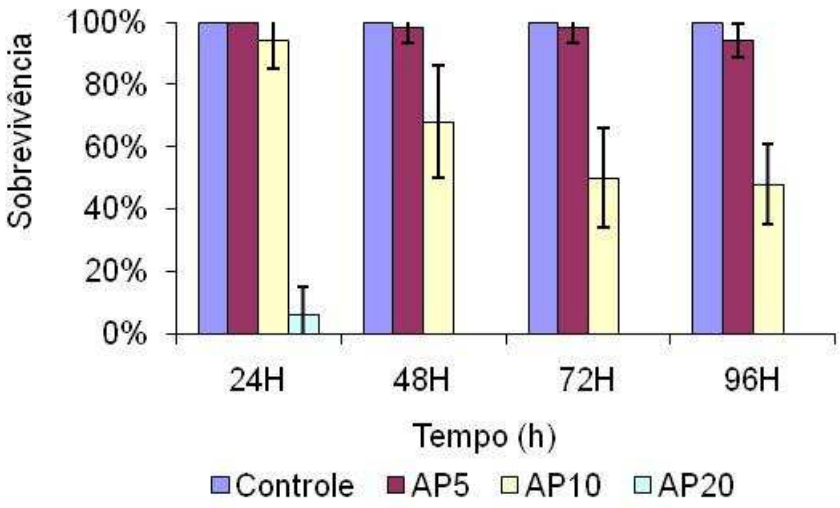


Figura 5.6: Porcentagem de sobrevivência das fêmeas a água de produção para a 4ª coleta.

Para o teste realizado com a AP da 5ª coleta, usando a amostra diluída tanto para 2,5 como para 5%, os resultados foram similares aos obtidos no controle, obtendo-se 94% de sobrevivência. Para essa amostra, com a diluição de 10% em 96 horas, pôde-se

observar uma mortalidade maior que para a amostra anterior visto que se observa uma sobrevivência de apenas 16% das fêmeas incubadas. Para a diluição de 20% não se observou sobrevivência em nenhum tempo de estudo. A CL50 calculada com 96 horas (para as diluições de 5, 10 e 20%) foi de 7,63 %. A FIG. 5.7 mostra a porcentagem de indivíduos, ao longo do tempo, que sobreviveram ao teste para cada diluição da água de produção.

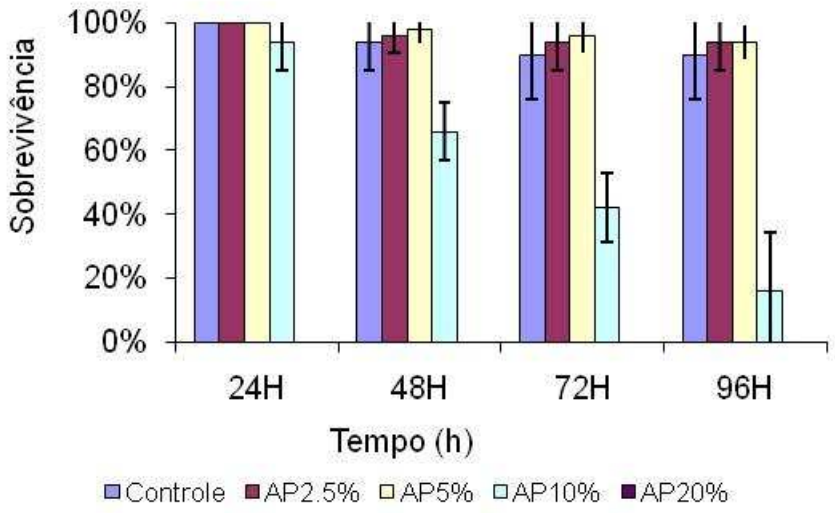


Figura 5.7: Porcentagem de sobrevivência das fêmeas a água de produção para a 5ª coleta.

Como a salinidade foi menor que a do teste anterior (21.800 mg/L de cloretos), a maior toxicidade do ensaio pode ser atribuída a elevação da carga orgânica a qual os indivíduos foram submetidos, pois na coleta anterior constatou-se uma DQO de 5.707 mg O_2/L enquanto que para este teste a DQO foi de 9.140 mg O_2/L. O que indica a maior sensibilidade destes organismos aos hidrocarbonetos do petróleo, provavelmente em maiores teores numa DQO mais elevada e no maior teor de óleos e graxas da amostra. A concentração de fenóis totais também foi superior nesse ensaio, passando de 0,046 mg/L na coleta anterior para 0,120 mg/L, o que pode ter sido o fator potencial, pois fenóis alquilados e os hidrocarbonetos aromáticos são um dos compostos que mais influenciam na toxicidade (OGP, 2005; UTVIK, 1999).

Levando em consideração os dois valores obtidos de CL50 e a diferença de salinidade entre as amostras, observa-se que este fator não está mais interferindo no aumento da toxicidade. Então, a DQO, os óleos e graxas e os fenóis, presentes em maiores concentrações, podem ter sido os compostos que mais contribuíram para o aumento da toxicidade na amostra da 5ª coleta.

A Tabela 5.7 contém os resultados da CL50 ao longo do tempo para a 4ª e 5ª coletas, nas diluições de 5, 10 e 20% de AP.

Tabela 5.7: Resultados da CL50 ao longo do tempo para a 4ª e 5ª coleta de AP.

SUBSTÂNCIA TESTADA	ESPÉCIE	DURAÇÃO DO TESTE	CL50 4ª coleta	CL50 5ª coleta
Água de Produção de Petróleo	*Tisbe Biminiensis*	24 horas	14,14%	13,57%
Água de Produção de Petróleo	*Tisbe Biminiensis*	48 horas	11,31%	11,17%
Água de Produção de Petróleo	*Tisbe Biminiensis*	72 horas	9,93%	9,37%
Água de Produção de Petróleo	*Tisbe Biminiensis*	96 horas	9,64%	7,65%

Fazendo a comparação da CL50 ao longo do tempo nas duas coletas observa-se que praticamente apenas no fim do ensaio (96 horas) a amostra da 5ª coleta apresentou uma toxicidade consideravelmente superior.

Gabardo (2007) testou a toxicidade de algumas águas de produção do Brasil. Os testes crônicos foram feitos com *Lytechinus variegatus* (ouriço do mar), que trata-se de um teste com um organismo de alta sensibilidade à vários agentes tóxicos. Em 83% das amostras o CENO ficou entre 6,25 e 12,5%. Esses testes apresentaram alta sensibilidade, de forma que os resultados obtidos, por esse autor, foram considerados restritivos. O autor também realizou ensaios de toxicidade aguda com os microcrustáceos: *Artemia sp*. e *Mysidopsis juniae*. Para o *Mysidopsis junae* a toxicidade obtida como CL50 em 96 horas máxima foi de 8,9%, para 24 amostras testadas. Para a *Artemia sp.* a CL50 48h máxima foi de 58,25% para 23 amostras utilizadas. O resultado com o *Mysidopsis juniae* foi intermediário, se comparado aos obtidos na presente pesquisa, para o *Tisbe biminiensis* nas duas coletas (9,64% e 7,54%), indicando toxicidade semelhante entre as águas de produção.

Na pesquisa de Barbieri (2004), a toxicidade aguda da água de produção de petróleo (Estado de Sergipe-Brasil) foi avaliada com dois organismos: *Poecilia vivípara* (peixe) e *Artemia salina* (microcrustáceo). Os animais foram expostos a diferentes diluições (1%, 5%, 10%, 20%, 30%, e 50%) por 96 horas. A CL50 para o peixe foi de 19,98% em 96 horas. O intervalo da CL50 para *Artemia salina* foi de 28,24% à 29,12% em 24h. Nas concentrações iguais ou menores do que 5% de AP não houve mortalidade. Em todos os tempos de exposição testados para a *Artemia salina* a mortalidade atingiu

níveis próximos a 54% após 24 horas e de 100% após 48 horas de exposição à 40% de água de produção. Após 24 horas de exposição com 50% de água de produção a mortalidade de *Poecilia vivipara* atingiu 100%.

Brendehaug et al. (1992) estudaram a toxicidade da AP com *Skeletonema costatum* (microalga), *Artemia salina* (crustáceo) e *Photobacterium phosphoreum* (bactéria). Os autores constataram que a letalidade em *Artemia salina* situou-se abaixo da diluição de 20% de AP e que a toxicidade foi mais alta nos ensaios com a bactéria.

Os valores obtidos por Henderson et al. (1999) para a toxicidade de AP utilizando a bactéria *Photobacterium phosphoreum*, variaram entre 5% e 12%, enquanto o valor médio de EC(50) para *Skeletonema costatum* foi de 28% de AP.

Porém, é válido ressaltar que, deve-se levar em consideração as condições das amostras testadas nas pesquisas citadas (diluições, salinidade, DQO, óleos, fenóis, etc) para se inferir maiores comparações com relação a toxicidade da AP estudada.

Vieira (2004) testou a toxicidade do benzeno e tolueno, usando o microcrustáceo marinho (*Metamysidopsis elongata atlantica*). Os testes duraram apenas 48h, visto que não houve diferença nos resultados entre estes e os testes de 96h de duração. A CL50 48h para benzeno e tolueno foram, respectivamente, 95,5 μg/L e 235,7 μg/L. Conhecidamente os BTEXs, em concentrações inferiores a 5 mg/L (KENNISH, 1997), são tóxicos a organismos marinhos.

As concentrações tóxicas extremamente baixas de benzeno e tolueno, vistas na pesquisa de Vieira (2004) denotaram o quanto esses organismos são sensíveis a componentes comuns da cadeia produtiva do petróleo. Na água de produção os agentes tóxicos normalmente estão presentes em concentrações muito baixas para provocarem isoladamente toxicidade aguda, o que sugere ações sinérgicas na toxicidade dos mesmos. Então, quanto menores forem as concentrações de substâncias tóxicas que provoquem efeito sinergético, mais difícil será o estabelecimento de sua relação com o efeito deletério sobre as espécies indicadoras. Do mesmo modo, torna-se difícil estabelecer a correlação entre a toxicidade e a concentração da maioria dos agentes tóxicos (VIEIRA, 2004).

Uma melhor visualização dessas comparações é obtida a Tabela 5.8. Como as espécies diferentes respondem de maneira diversa também, então a Tabela 5.8 ilustra a CL50 obtida com outros microcrustáceos (*Mysidopsis junae* e *Artemia sp*), não sendo possível maiores comparações. A substância de referência, o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) indica uma sensibilidade conhecida do organismo testado.

Tabela 5.8: Comparação dos resultados da CL50 entre algumas espécies de microcrustáceos e diferentes substratos.

SUBSTÂNCIA TESTADA	ESPÉCIE	DURAÇÃO DO TESTE	CL50	REFERÊNCIA
Referência: Dicromato de Potássio ($K_2Cr_2O_7$)	*Tisbe Biminiensis*	96 horas	10,77 mL/L	ARAÚJO-CASTRO et al., 2009
Água de Produção de Petróleo	*Tisbe Biminiensis*	96 horas	9,64%	Presente pesquisa (4ª coleta)
Água de Produção de Petróleo	*Tisbe Biminiensis*	96 horas	7,63%	Presente pesquisa (5ª coleta)
Água de Produção de Petróleo	*Mysidopsis junae*	96 horas	8,9%	GABARDO, 2007
Água de Produção de Petróleo	*Artemia sp*	48 horas	58,25%	GABARDO, 2007
Água de Produção de Petróleo	*Artemia salina*	24 horas	28,24% e 29,12%	BARBIERI, 2004
Benzeno	*Metamysidopsis elongata atlantica*	48 horas = 96 horas	95,5 μg/L	VIEIRA, 2004
Tolueno	*Metamysidopsis elongata atlantica*	48 horas = 96 horas	235,7 μg/L	VIEIRA, 2004

Nos testes de AP no Mar do Norte, caracterizadas por E&P Forum, (1994), a AP apresentou toxicidade para os organismos marinhos testados, sendo os crustáceos o grupo mais sensível. Como os testes dessa pesquisa foram realizados com microcrustáceos pode-se conjecturar que provavelmente outro tipo de organismos apresentaria menor sensibilidade à água de produção estudada. Por exemplo, a *Artemia sp* e a *Artemia salina* (GABARDO, 2007 e BARBIERE, 2004) apresentaram toxicidade bem inferior para a AP, mesmo levando em consideração as variações de composição das APs (Tabela 5.8).

No trabalho de Sarni et al. (2008) foram avaliados, por meio de diversos bioensaios com organismos marinhos, os efeitos das variações de salinidade e de nutrientes, com relação ao risco de falsos positivos e também para encontrar limiares de interferência potencial em matrizes ambientais. Entre as espécies testadas estava o *Fulvus Tigriopus*, que é um copépodo harpacticóide (tal como o *Tisbe Biminienses*). Com relação às diferentes salinidades testadas (variando de 20 a 40 PSU) os resultados mostraram influência significativa no teste, representando um fator de falso positivo ou negativo. Sobre os compostos de nitrogênio avaliados, destaca-se que os organismos são afetados de forma diferente pelas matrizes. Como a salinidade é muita alta na AP de

estudo, esta pode ter interferido bastante nos resultados, levando a altas CL50, mesmo aplicando-se diluições.

Sendo a água de produção rica em hidrocarbonetos e BTEX é esperado que os organismos marinhos fiquem vulneráveis aos seus efeitos tóxicos, uma vez que eles absorvem estes contaminantes pelos tecidos, brânquias e por ingestão direta da água contaminada. Ainda, segundo GESAMP (1993), os hidrocarbonetos de baixa massa molecular apresentam efeito tóxico agudo intenso, principalmente devido à elevada solubilidade e conseqüente biodisponibilidade para esses organismos.

Então, assim como alguns autores citados em E&P Forum (1994), a tentativa de identificar algum componente determinante da toxicidade na água de produção estudada não foi conclusiva. Contudo, observou-se que a toxicidade poderia estar relacionada a maiores teores de DQO, óleos e fenóis.

As variações de toxicidade observadas em amostras de AP possivelmente foram decorrentes da interação entre todos os componentes presentes na amostra. Devido à complexidade e a variabilidade entre si, uma análise de correlação entre os efeitos de toxicidade e a composição química seria muito complexa, pois os compostos presentes podem atuar de forma sinérgica, aditiva e/ou antagônica.

5.1.4- Testes de AME e de biodegradação anaeróbia

Antes de iniciar os experimentos contínuos com os reatores foi realizado um teste de atividade metanogênica específica máxima (AME), no qual foi utilizado apenas o lodo não adaptado, oriundo de estação de tratamento de esgoto doméstico.

O pH em todos os reatores oscilou entre 7,3 e 7,6. A taxa diária de produção de metano máxima obtida com o uso do esgoto sintético (ES) foi de 0,113g CH_4-DQO/g STV.d.

A Tabela 5.9 mostra como a AME e a remoção de DQO (em relação ao ES) diminuíram com o aumento da salinidade, além das condições do teste. A Tabela 5.9 mostra as condições e resultados do teste inicial de AME.

Tabela 5.9: Condições e resultados do teste inicial de AME.

DILUIÇÕES	DQO INICIAL (mg O_2/L)	TEOR DE Na^+(mg/L)	TEOR DE Ca^{2+}(mg/L)	TEOR DE Mg^{2+}(mg/L)	DIMINUIÇÃO DA AME (EM RELAÇÃO AO ES)	REMOÇÃO DE DQO
ES	1.685	340	9	-	------	81%
2%AP+98% ES	1.605	995	480	43	7%	79%
5%AP+95%ES	1.773	2.419	828	108	37%	68%
10%AP+90%ES	1.948	4.033	1.416	216	44%	67%
15%AP+85%ES	2.585	6.657	2.004	325	63%	32%

Na FIG. 5.8 pode-se observar a conversão da produção de metano em DQO durante o experimento. E na FIG. 5.9 a produção de biogás ao longo do experimento.

Para uma melhor identificação, as duplicatas do teste foram nomeadas de acordo com o percentual de AP adicionado, assim, nos gráficos da FIG. 5.8 a linha de 2% representou o reator com 2% de AP e 2%´ representou a sua duplicata. Este procedimento foi repetido para todas as porcentagens. Nos gráficos o B ES é relativo ao controle feito com o esgoto sintético e o B nut, o feito apenas com os nutrientes, sem substrato.

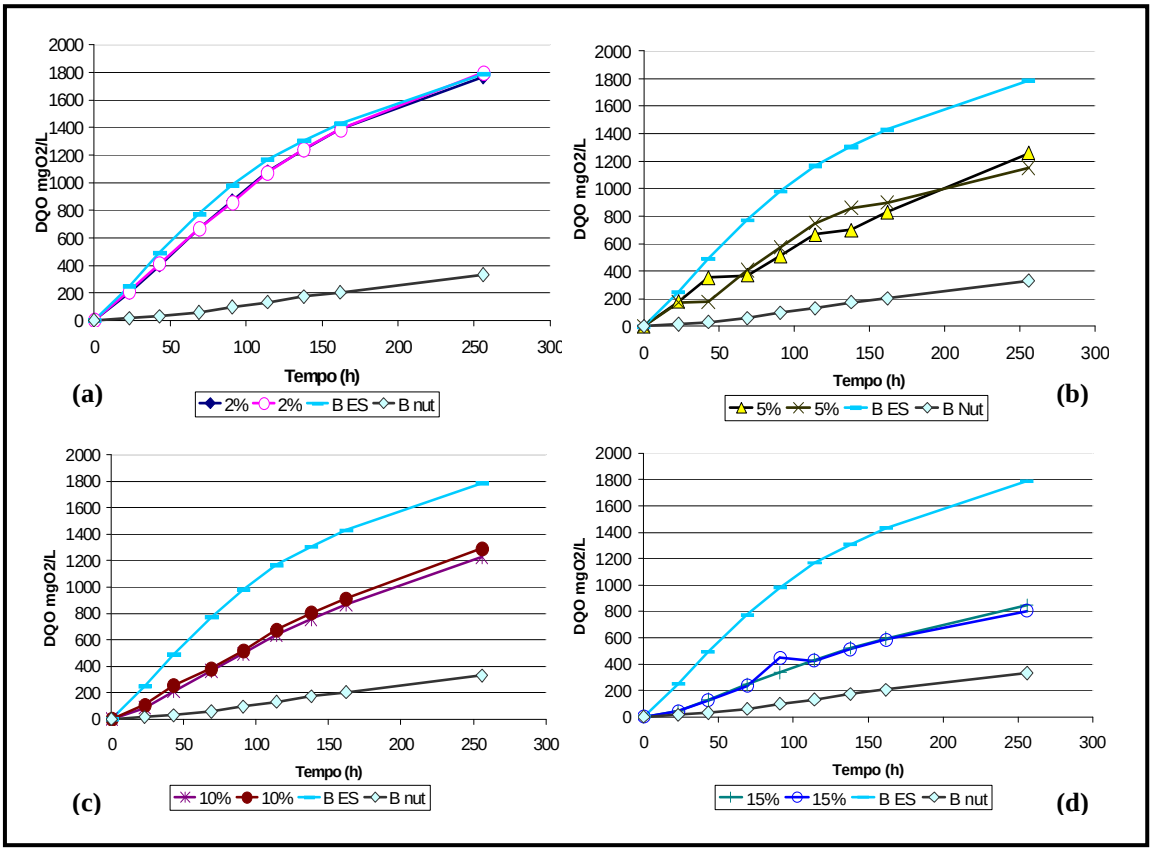


Figura 5.8: Conversão da produção de metano em DQO no teste inicial de AME, em comparação com o ES e os nutrientes, com 2% (a), 5% (b), 10% (c) e 15% (d) de AP.

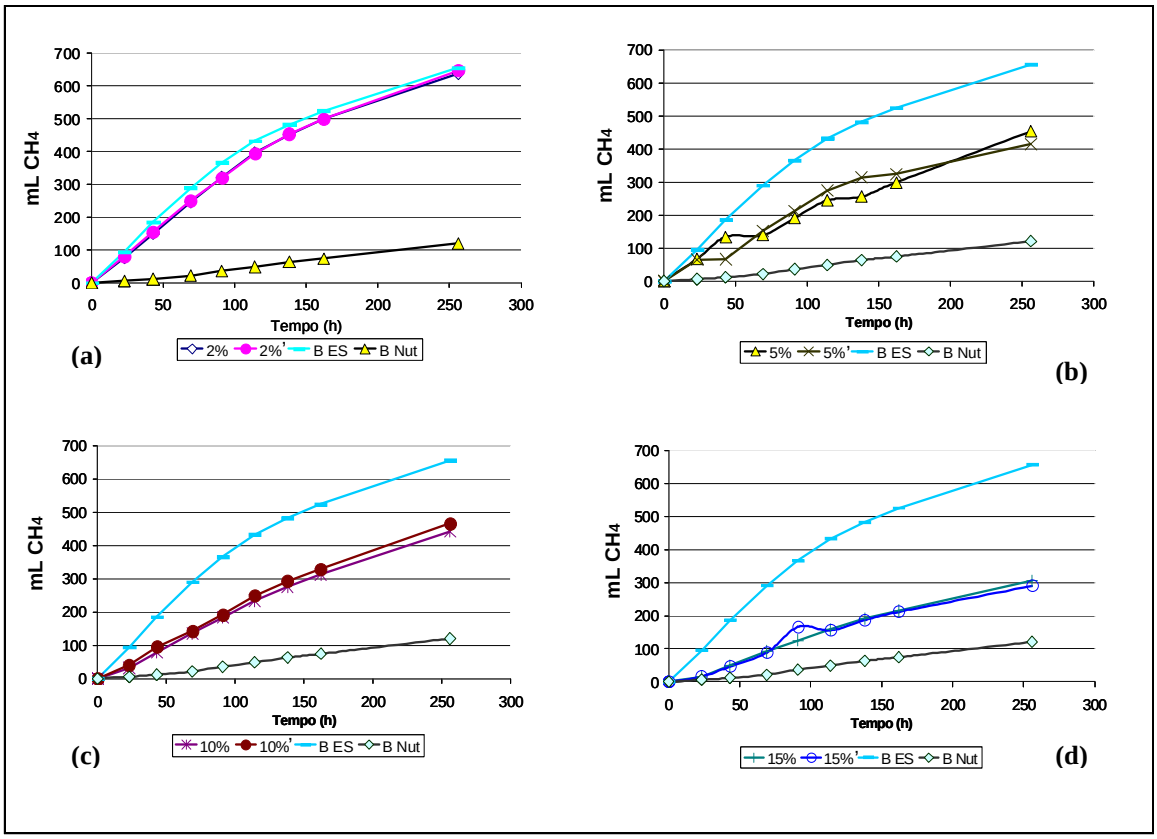


Figura 5.9: Produção de metano no teste inicial de AME, em comparação com o ES e os nutrientes, com 2% (a), 5% (b), 10% (c) e 15% (d) de AP.

O reator que apresentou maior eficiência foi aquele com a adição de apenas esgoto sintético (ES) e nutrientes (B ES), atingindo valores equivalentes de DQO bem próximos de 1.800 mg O_2/L. Apesar da adição de 1.685 mg O_2/L neste reator, esta elevada produção pode estar relacionada com a produção de metano oriunda da respiração endógena que neste teste chegou à produção de metano equivalente a uma DQO de aproximadamente 330 mg O_2/L, observada no reator B Nut. A melhor eficiência já era esperada, pois o lodo não era adaptado ao sódio e assim responderia melhor aos menores teores de Na^+.

Os reatores com 2% de AP apresentaram boa reprodutibilidade e boa eficiência, também chegando à produção de metano equivalente a aproximadamente 1.800 mg O_2/L, apesar dos seus 1.605 mgO_2/L inicialmente adicionados. Este fato também pode ser justificado pela quantidade considerável de metano fornecida pela respiração endógena (aproximadamente 330 mgO_2/L) como nos reatores com apenas ES. A concentração de sódio, oriunda da AP, adicionada neste teste (995 mg/L) se mostrou acima da faixa estimulatória (de 100 até 200 mg/L) citada por McCarty (1964) e abaixo das concentrações consideradas inibitórias pelo mesmo autor (de 3.500 até 5.500 mg/L).

Nessa porcentagem (2%), em comparação com o ES, o teor de sódio não apresentou grande interferência. A concentração de potássio presente na AP utilizada foi de cerca de 3.000 mg/L. Sabendo que o ES apresentou uma concentração baixa de potássio (93 mg/L) pôde-se estimar uma concentração de aproximadamente 151 mg K^+/L para os reatores com 2% de AP que, de acordo com McCarty (1964), está abaixo dos valores considerados estimulatórios pelo autor (entre 200 e 400 mg/L). Este valor é quase 4 vezes maior que o que seria necessário de acordo com Kugelman e McCarty (1965) (40 mg K^+/L), para antagonizar o sódio presente e 2 vezes maior que o valor sugerido por Basharat et al. (2004a) (aproximadamente 67 mg K^+/L). Quanto ao Ca^{2+}, os 480 mg/L adicionados foram muito mais que o necessário sugerido por Kugelman e McCarty (1965) (20 mg Ca^{2+}/L) e que os 83,3 mg/L sugeridos por Basharat et al. (2004b) e se mantiveram abaixo do considerado inibitório por McCarty (1964). A taxa diária de produção máxima de metano observada para estes reatores (2% de AP) foi de 0,105g CH_4-DQO/gSTV.d mostrando uma redução de apenas 7% da taxa do ES. Desta forma, o poder antagonizante e sinergético dos íons, como o Mg^{2+} também presente, pode ter minimizado o efeito do sódio no teste.

Os reatores com 5% de AP já mostraram alterações quanto à reprodutibilidade, porém o comportamento geral se mostrou semelhante ao dos outros reatores. Mas, com essa porcentagem a alteração na eficiência de tratamento foi alta (aproximadamente 68%), pois a produção máxima de metano remete a uma DQO consumida de aproximadamente 1.200 mgO_2/L diante dos 1.773 mgO_2/L adicionados. A DQO removida pode ser ainda menor quando se leva em consideração os 330 mgO_2/L referentes à respiração endógena.

A concentração de sódio com 5% de AP no teste (2.419 mg/L) ainda se mostrou acima da faixa estimulatória citada por McCarty (1964) e abaixo das concentrações por ele consideradas inibitórias (de 3.500 até 5.500 mg/L).

Quanto ao potássio presente no meio (150 mg/L) já se tem um valor superior ao necessário de acordo com Kugelman e McCarty (1965) (100 mg/L), porém um pouco menor que o sugerido por Basharat et al. (2004a) que é de 167 mg/L. Dessa forma seria possível que uma complementação desta concentração trouxesse melhores resultados. Quanto ao Ca^{2+}, o teor de 828 mg/L presente foi muito mais que o sugerido por Kugelman e McCarty (1965) (50 mg Ca^{2+}/L) e que os 208,3 mg/L sugeridos por Basharat et al. (2004b) e se mantiveram abaixo do teor considerado inibitório (de 2.500 até 4.500 mg/L) por McCarty (1964). Da mesma forma, o poder antagonizante e

sinergético dos cátions inerentes a amostra, pode também ter minimizado o efeito do sódio neste teste. A taxa diária de produção de metano máxima média determinada para 5% de AP foi de 0,0715 g CH_4-DQO/g STV.d mostrando uma redução de aproximadamente 37% do valor obtido com ES. Em relação aos reatores com 10% AP pode-se observar que a redução no consumo da DQO fornecida foi equivalente aos testes com 5% de AP (aproximadamente 67% de eficiência de redução de DQO), tendo-se um consumo em torno de 1.300 mgO_2/L diante dos 1.948 mgO_2/L adicionados. As duplicatas também exibiram comportamento semelhante entre si e em relação aos outros testes confirmando assim a boa reprodutibilidade dos testes.

Para 10% de AP a concentração de sódio adicionada (4.033 mgNa^+/L) se mostrou dentro da faixa inibitória citada por McCarty (1964), o que pode ser notado na Figura 5.8 onde se detecta a grande diferença entre a remoção de DQO em relação ao ES. O potássio presente no meio (300 mg/L) é bem superior ao necessário (160 mg/L) de acordo com Kugelman e McCarty (1965), porém um pouco menor que o sugerido por Basharat et al. (2004a) que é de 356 mg/L. Uma possível complementação desta concentração poderia trazer melhores resultados. Os 1.416 mg Ca^{2+}/L adicionados, como nos outros testes, foram muito mais que o necessário sugerido por Kugelman e McCarty (1965) (80 mg Ca^{2+}/L) e que os 333,3 mg/L sugeridos por Basharat et al. (2004b) e se mantiveram abaixo do considerado inibitório por McCarty (1964), porém muito acima da faixa considerada estimulante (de 100 até 200 mg/L). A taxa diária de produção de metano máxima média determinada para estes reatores foi de 0,0625 g CH_4-DQO/gSTV.d mostrando uma redução de aproximadamente 44% da taxa do ES.

Para a máxima diluição testada (15% de AP) pôde-se verificar uma redução drástica na remoção de DQO (FIG. 5.8). Dos 2.585 mg O_2/L adicionados, apenas pouco mais de 800 mgO_2/L foram consumidos, apresentando assim uma eficiência média de aproximadamente 32%, valor esse muito baixo para eficiência de tratamentos anaeróbios.

A concentração de sódio aqui adicionada foi de 6.657 mg/L se mostrando acima da faixa inibitória citada por McCarty (1964), o potássio presente no meio (450 mg/L) é bem superior ao necessário (264 mg/L) de acordo com Kugelman e McCarty (1965), e próximo ao valor sugerido por Basharat et al. (2004a) que é de 441 mg/L.

Os 2.004 mg Ca^{2+}/L presentes, como nos outros testes, foram muito mais que o necessário sugerido por Kugelman e McCarty (1965) (132 mg Ca^{2+}/L) e que os 550 mgCa^{2+}/L sugeridos por Basharat et al. (2004b), porém se mostraram um tanto acima da

faixa inibitória sugerida por McCarty (1964), (de 1.000 até 1.500 mg/L). Este ponto pode ter sido significativo neste teste, pois ao invés de promover o efeito antagonizante o Ca^{2+} pode ter causado um efeito inibitório prejudicando assim a produção de metano. A concentração de 324,6 mg Mg^{2+}/L também merece ser considerada, pois já ultrapassa a faixa estimulatória (de 75 até 150 mg/L) também sugerida por McCarty (1964). A taxa diária de produção de metano máxima média determinada para a porcentagem de 15% de AP foi de 0,0415 g CH_4-DQO/gSTV.d com uma redução de 63% em comparação com o ES.

Em geral, pôde-se constatar um comportamento semelhante em todos os reatores avaliados, já que o aumento da salinidade levou a um pior desempenho do sistema. Partindo-se da análise desses resultados o experimento com os reatores UASB contínuos foi então iniciado.

Usando uma biomassa não adaptada, (oriunda de estação de tratamento de esgoto doméstico), a adição imediata de 2% de AP (995 mg/L de sódio) não afetou a eficiência de remoção de DQO em termos significativos, em comparação com o uso do ES (de 81 para 79%). Foram observadas alterações na produção de metano a partir da diluição com 5% de AP (eficiência de conversão DQO-CH_4 de aproximadamente 68%), mesmo tendo uma concentração de sódio ainda abaixo da considerada inibitória por McCarty (1964); os reatores com 10% de AP exibiram eficiência semelhante, mesmo tendo concentrações de cátions dentro da faixa considerada inibitória pelo mesmo autor. Então, a adição de até 10% da água de produção de petróleo (cerca de 4.000 mg/L de sódio) mesmo com redução de eficiência de remoção de DQO, esta ainda seria considerada satisfatória (67%). Já com teores de quase 7.000 mg/L de sódio (cerca de 15% de AP) o sistema não seria considerado vantajoso (32% de remoção de DQO). Tendo isso em vista optou-se por operar os reatores UASB contínuos até esse limite de sódio.

5.2- Experimentos com reatores anaeróbios tipo UASB

Ambos os reatores UASB operaram continuamente durante 632 dias. As variações ocorridas nesse período são descritas e analisadas. A concentração de lodo em cada reator foi de 24,2 kg SSV/m^3. A carga orgânica volumétrica média inicial foi de cerca de 1 kg DQO/m^3.dia e a carga biológica inicial aplicada ao lodo foi de cerca de 0,05 kgDQO/kgSSV.dia.

Os reatores funcionaram a temperatura ambiente sem nenhum dispositivo de controle. A temperatura foi monitorada por meio de um termômetro instalado próximo ao aparato experimental, e oscilou entre 27°C e 33°C, na faixa mesofílica, ideal para a atividade bacteriana e maioria das reações químicas.

A partida dos reatores para a adaptação do lodo foi monitorada durante 119 dias apenas com esgoto sintético (ES). Após verificar a estabilidade aparente dos reatores, quando o reator anaeróbio atingiu eficiência média de remoção de DQO de 86% foi considerada que a partida deles já ocorrera e iniciou-se a introdução da AP juntamente com o esgoto sanitário sintético (Fase II). O resultado médio de remoção de DQO obtido com o uso de apenas esgoto sintético, se comparado ao teste inicial (Tabela 5.9) é superior, haja vista a melhoria de eficiência do sistema, obtida com o sistema contínuo e com o uso conjunto do lodo granular no inóculo.

Na Fase II o sistema foi alimentado com uma mistura de água de produção e esgoto sanitário sintético, na relação 5% do volume útil de água de produção e 95% de esgoto sintético. Optou-se pela introdução direta de 5% de AP, configurando um valor médio de sódio de 4.373 mg Na^+/L. Esse teor de sódio foi próximo ao obtido com 10% de AP no teste inicial, que ainda apresentou remoção de DQO satisfatória (67%).

A concentração adicionada de potássio para antagonizar a toxicidade do sódio no reator UASB e a escolha da forma de inserir o íon em solução, foi baseada nos estudos de Basharat et al. (2004[a,b]), que usou cloreto de potássio (KCl) e embora houvesse a adição de íons Cl^- foi obtida uma solução sem alteração da DQO. A possível adição de cálcio (Ca^{2+}) seria desnecessária, pois a AP, nas proporções usadas, apresentou concentrações deste íon muito acima das propostas, tanto por Olmo, 2005, como por Basharat et al. (2004[a,b]).

A fim de não interferir nos possíveis processos adaptativos da biomassa, o potássio, que começou a ser suplementado no Reator A na Fase IV, na forma de KCl, seguiu a mesma proporção até o fim do experimento (em torno de 1.000 mg K^+/L).

As Tabelas 5.10 e 5.11 foram confeccionadas no intuito de apresentar as condições e os dados médios, devidamente compilados, obtidos ao longo das fases operacionais para os Reatores A e B.

.

Tabela 5.10: Resumo das condições e resultados médios das fases operacionais no Reator A.

FASE	Período (dias)	Intervalo (dias)	TDH médio (horas)	SUBSTRATO	Relação nutricional (DQO:N:P)	Sódio Afluente ($mgNa^+/L$)	DQO Afluente (mgO_2/L)	DQO Efluente (mgO_2/L)	Cálcio Afluente ($mgCa^{2+}/L$)	Potássio Afluente (mgK^+/L)	Relação Sódio:DQO Afluente	Relação $Na^+:Ca^{2+}:K^+$ Afluente	Eficiência média de remoção de DQO (%)	Carga orgânica volumétrica média aplicada ($kg\ DQO/m^3.d$)	Carga orgânica média aplicada ao lodo ($kg\ DQO/kgSSV.d$)
I	0-119	119	23,9	ES	300:5:1	340	1.176	165	8,9	9,7	0,3	35:1:1	86,0	1,19	0,049
II	119-191	72	24,5	ES + AP	300:5:1	4.373	2.394	547	597	191	1,8	23:1:1	77,2	2,36	0,098
III	191-230	39	22,9	ES + AP	300:5:1	5.682	2.346	680	1.211	219	2,4	26:6:1	71,0	2,49	0,103
IV (K^+)	230-314	84	23,0	ES + AP	300:5:1	5.587	2.686	993	1.511	1.070	2,1	5:1:1	63,0	2,76	0,114
V (K^+)	314-414	100	23,4	ES + AP	300:5:1	4.829	1.180	532	1.670	1.000	4,1	5:2:1	54,9	1,21	0,050
VI (K^+)	490-540	60	46,9	ES + AP	300:5:1	6.800	1.155	477	2.400	1.270	5,9	5:2:1	58,7	0,59	0,024
VII (K^+)	559-589	30	47,2	ES + AP	300:5:1	3.393	559	433	-	-	6,1	-	22,6	0,28	0,012
VIII (K^+)	589-608	19	47,6	Metanol + AP	300:5:1	3.257	465	311	-	-	7,0	-	33,3	0,23	0,010
IX (K^+)	608-632	24	48,1	Metanol + AP	100:20:2,7	3.012	624	578	-	-	4,8	-	7,3	0,31	0,013

Tabela 5.11: Resumo das condições e resultados médios das fases operacionais no Reator B.

FASE	Período (dias)	Intervalo (dias)	TDH médio (horas)	SUBSTRATO	Relação nutricional (DQO:N:P)	Sódio Afluente ($mgNa^+/L$)	DQO Afluente (mgO_2/L)	DQO Efluente (mgO_2/L)	Cálcio Afluente ($mgCa^{2+}/L$)	Potássio Afluente (mgK^+/L)	Relação Sódio:DQO Afluente	Relação $Na^+:Ca^{2+}:K^+$ Afluente	Eficiência média de remoção de DQO (%)	Carga orgânica volumétrica média aplicada ($kg\ DQO/m^3.d$)	Carga orgânica média aplicada ao lodo ($kg\ DQO/kgSSV.d$)
I	0-119	119	24,2	ES	300:5:1	340	1.176	166	8,9	9,7	0,3	35:1:1	85,9	1,17	0,048
II	119-191	72	23,2	ES + AP	300:5:1	4.373	2.394	546	597	191	1,8	23:1:1	77,2	2,44	0,101
III	191-230	39	24,1	ES + AP	300:5:1	5.682	2.346	662	1.211	219	2,4	26:6:1	71,8	2,37	0,098
IV	230-314	84	23,8	ES + AP	300:5:1	5.737	2.618	1.118	1.496	227	2,2	25:7:1	57,3	2,58	0,107
V	314-414	100	23,8	ES + AP	300:5:1	4.750	1.163	527	1.661	211	4,1	23:8:1	54,7	1,18	0,049
VI	490-540	60	46,8	ES + AP	300:5:1	6.957	1.149	474	2.498	210	6,1	33:12:1	58,8	0,59	0,024
VII	559-589	30	47,5	AP	300:5:1	3.387	270	248	-	-	12,5	-	8,8	0,14	0,006
VIII	589-608	19	48,2	AP	300:5:1	3.180	283	251	-	-	11,2	-	11,3	0,14	0,006
IX	608-632	24	47,9	Metanol + AP	100:5:1	3.107	578	418	-	-	5,4	-	8,2	0,23	0,009

*(-) Análise não realizada.

Os dados referentes aos íons Ca^{2+} e K^{+}, nas Fases VII, VIII e IX não constam nas Tabelas 5.10 e 5.11, pois com o uso de metanol como co-substrato ou na ausência deste, só foi regulado o teor de sódio afluente aos reatores.

Da Fase I para a Fase II a eficiência de remoção de DQO média diminuiu, de cerca de 86% para 77%, nos dois reatores. Na Fase III a média de remoção foi de aproximadamente 71%, em ambos. Na Fase IV as eficiências de remoção de DQO foram de 63% e 57% para os reatores A e B respectivamente. Na Fase IV as eficiências diminuiram e foram novamente praticamente iguais (55% em ambos reatores).

Para o Reator A, suplementado com K^{+}, a partir da Fase IV, observou-se a capacidade aparente de antagonização aos efeitos tóxicos do sódio, visto que no reator A foi obtida maior eficiência de remoção de DQO. A presença de cátions na AP principalmente o cálcio, pode ter interferido nos fenômenos de antagonismo e sinergismo (Tabela 5.9). A antagonização do potássio foi dita como aparente porque, após a análise da variância, estatisticamente não houve diferenças entre os reatores, na Fase IV.

Ao longo das fases de operação, com o aumento do teor da água de produção e como conseqüência da salinidade, foi observada uma diminuição da eficiência de remoção de DQO em ambos os reatores, provavelmente devido a problemas na digestão anaeróbia, já levantados, causada pela co-toxicidade do sódio, em conjunto com os hidrocarbonetos presentes na AP. Adicionalmente, nas três últimas fases a carga orgânica volumétrica aplicada aos reatores era muito baixa (0,31 a 0,14 kg DQO/m^3.d), dificultando ainda mais a remoção de DQO.

Para os reatores, a contribuição em termos de DQO da AP foi, em média de 225 mg/L na Fase II, na Fase III de 520 mg/L, na Fase IV de 330 mg/L, na Fase V de 380 mg/L, na Fase VI de 359 mg/L e na VII de 156 mg/L. Examinando as Tabelas 5.10 e 5.11 foi visto que a DQO efluente em ambos os reatores, a partir da Fase II sempre foi maior que esses valores. Portanto, pode-se inferir que essa DQO seria na sua maioria oriunda da água de produção, já que a matéria orgânica de fácil degradação, presente no ES seria preferencialmente consumida. Visando verificar essa teoria, o Reator B, nas Fases VII e VIII, foi operado sem co-substrato, apenas com a AP diluída em água e suplementada com nutrientes. Nessas condições a remoção de DQO média alcançada foi de apenas 8,8 e 11,3%, respectivamente.

Concluindo que, possivelmente a DQO correspondente a AP não foi degradada por via anaeróbia, observando-se apenas uma adaptação dos microrganismos à salinidade e aos contaminantes presentes na AP, nas fases anteriores.

Analisando a relação entre o teor de sódio e a DQO (Tabelas 5.10 e 5.11) foi visto que em quase todas as fases (exceto nas Fases VII e VIII) essa relação é bem próxima, o que é refletido também na eficiência de remoção de DQO, que apresenta valores semelhantes.

Nas Fases VII e VIII o Reator B foi submetido a uma DQO cerca de metade da DQO do Reator A e não recebeu substrato de fácil degradação (ES ou metanol). Isso levou a altas relações médias entre o sódio e a DQO (12,5 e 11,2 respectivamente), impactando no processo degradativo levando a remoções de DQO muito baixas, com valores médios de 8,8% e 11,3%, respectivamente. O Reator A nessas mesmas fases recebeu ES (Fase VII) e metanol (Fase VIII) como co-substrato, apresentando assim uma relação média entre o sódio e a DQO de 6,1 e 7,0 e remoções de matéria orgânica superiores (22,6% e 33,3%, respectivamente).

Diante disso, a melhoria do processo biológico pode ser atribuída à adição de um substrato que possa ser mais facilmente degradado, e também a menores proporções na relação entre o teor de sódio e a DQO afluente.

Segundo o trabalho pioneiro de Kugelman e McCarty (1965), a relação Na^+:Ca^{2+}:K^+ segue a proporção: 25:50:1. Na pesquisa de Basharat et al. (2004[a,b]), a relação Na^+:K^+ foi de 15:1 e de Na^+:Ca^{2+} de 12:1. No presente estudo essas relações não foram obtidas (Tabela 5.12).

Tendo em vista a influência dos cátions presentes na AP nos fenômenos de antagonismo, além do efeito sinergético, a Tabela 5.12 mostra os resultados médios de sódio, cálcio e potássio ao longo das fases operacionais dos reatores, com cerca de 14 análises para cada íon em cada fase.

Tabela 5.12: Resultados médios de sódio, cálcio e potássio ao longo das fases operacionais dos Reatores A e B.

FASE	DIAS	AMOSTRA	SÓDIO (mg Na^+/L)	CÁLCIO (mg Ca^{2+}/L)	POTÁSSIO (mg K^+/L)	Relação Na^+:Ca^{2+}:K^+
FASE I **TDH: 24 horas** (0-119 dias)	119	Afluente: ES	340	8,9	9,7	35:1:1
		Efluente A	270	8,4	9,4	29:1:1
		Efluente B	270	8,6	9,3	29:1:1
FASE II **TDH: 24 horas** (119-191 dias)	72	Afluente: ES + AP	4.373	597	191	23:3:1
		Efluente A	2.655	520	92	29:6:1
		Efluente B	2.670	530	93	29:6:1
FASE III **TDH: 24 horas** (191-230 dias)	39	Afluente: ES + AP	5.682	1.211	219	26:6:1
		Efluente A	5.583	1.140	219	25:5:1
		Efluente B	5.530	1.109	217	25:5:1
FASE IV **TDH: 24 horas** (230-314 dias)	84	Afluente A: ES + AP	5.587	1.511	1.017	5:1:1
		Efluente A	5.544	1.492	1.028	5:1:1
		Afluente B: ES + AP	5.737	1.496	227	25:7:1
		Efluente B	5.377	1.476	225	24:7:1
FASE V **TDH: 24 horas** (314-414 dias)	100	Afluente A: ES+ AP	4.829	1.670	1.000	5:2:1
		Efluente A	4.801	1.640	1.007	5:2:1
		Afluente B: ES + AP	4.750	1.661	211	23:8:1
		Efluente B	4.672	1.650	207	23:8:1
FASE VI **TDH: 48 horas** (490-540 dias)	60	Afluente A: ES + AP	6.800	2.400	1.270	5:2:1
		Efluente A	6.600	2.440	1.175	6:2:1
		Afluente B: ES + AP	6.957	2.498	210	33:12:1
		Efluente B	6.900	2.228	190	36:12:1

Analisando os resultados mostrados na Tabela 5.12, com base no trabalho de McCarty (1964), onde o autor estima faixas de concentrações consideradas estimulatórias e inibitórias para o sódio, cálcio, potássio e magnésio, pode-se perceber que: o sódio a partir da Fase II teve efeito inibitório ao sistema biológico; o cálcio, apenas na Fase VI, chegou a valores no limite da faixa de inibição (2.500 mg/L); o potássio no Reator B ficou sempre na faixa estimulatória (200 a 400 mg/L); o Reator A, apesar de suplementado com potássio não chegou a valores inibitórios (2.500 mg/L). O teor de cálcio na Fase VI (onde o TDH foi dobrado), pode, juntamente com o sódio muito elevado, ter influenciado na melhoria não significativa da remoção de DQO (de cerca de 55% para 59% em ambos reatores). A influência dos cátions no processo anaeróbio é assim demonstrada, pois mesmo com TDH elevado o sistema microbiano não foi mais eficiente na remoção de matéria orgânica.

Na seqüência são apresentadas as Tabelas 5.13 a 5.19 que mostram um resumo dos valores médios de pH, DQO, alcalinidade total, AOV e nitrogênio amoniacal nos Reatores A e B, em separado, para as Fases I, II, III, IV, V, VI e VII, respectivamente.

Tabela 5.13: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total, AOV e nitrogênio amoniacal nos Reatores A e B na Fase I.

PARÂMETRO	ESTATÍSTICA	AFLUENTE A e B	EFLUENTE A	EFLUENTE B
pH	MÉDIA	7,1 ± 0,4	7,3 ± 0,3	7,3 ± 0,3
	NÚM. DADOS	16	16	16
	COEF. VAR. (%)	5	4	4
DQO (mgO_2/L)	MÉDIA	1.176 ± 269	165 ± 39	166 ± 47
	NÚM. DADOS	16	16	16
	COEF. VAR. (%)	23	24	28
ALCALINIDADE TOTAL ($mg\ CaCO_3/L$)	MÉDIA	265 ± 65	496 ± 55	484 ± 63
	NÚM. DADOS	13	13	13
	COEF. VAR. (%)	25	11	13
AOV (mg/L)	MÉDIA	201 ± 65	43 ± 20	46 ± 20
	NÚM. DADOS	13	13	13
	COEF. VAR. (%)	33	46	45
NITROGÊNIO AMONIACAL ($mg\ N\text{-}NH_4/L$)	MÉDIA	9,2 ± 5,5	29,5 ± 16,6	25,9 ± 10,7
	NÚM. DADOS	6	6	6
	COEF. VAR. (%)	60	56	41

Tabela 5.14: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total, AOV e nitrogênio amoniacal nos Reatores A e B na Fase II.

PARÂMETRO	ESTATÍSTICA	AFLUENTE A e B	EFLUENTE A	EFLUENTE B
pH	MÉDIA	7,2 ± 0,3	7,5 ± 0,1	7,4 ± 0,1
	NÚM. DADOS	16	16	16
	COEF. VAR. (%)	4	2	1
DQO (mgO_2/L)	MÉDIA	2.394 ± 282	563 ± 144	567 ± 142
	NÚM. DADOS	16	16	16
	COEF. VAR. (%)	12	26	25
ALCALINIDADE TOTAL ($mg\ CaCO_3/L$)	MÉDIA	796 ± 157	1.005 ± 267	1.060 ± 278
	NÚM. DADOS	11	11	11
	COEF. VAR. (%)	20	27	26
AOV (mg/L)	MÉDIA	178 ± 46	67 ± 22	55 ± 24
	NÚM. DADOS	5	5	5
	COEF. VAR. (%)	26	34	43
NITROGÊNIO AMONIACAL ($mg\ N\text{-}NH_4/L$)	MÉDIA	46 ± 17	75 ± 39	68 ± 30
	NÚM. DADOS	7	7	7
	COEF. VAR. (%)	36	52	44

Tabela 5.15: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total, AOV e nitrogênio amoniacal nos Reatores A e B na Fase III.

PARÂMETRO	ESTATÍSTICA	AFLUENTE A e B	EFLUENTE A	EFLUENTE B
pH	MÉDIA	7,6 ± 0,3	7,5 ± 0,2	7,5 ± 0,2
	NÚM. DADOS	13	13	13
	COEF. VAR. (%)	4	3	2
DQO (mgO_2/L)	MÉDIA	2.346 ± 243	680 ± 65	662 ± 77
	NÚM. DADOS	13	13	13
	COEF. VAR. (%)	10	10	12
ALCALINIDADE TOTAL ($mg\ CaCO_3/L$)	MÉDIA	582 ± 54	735 ± 82	734 ± 87
	NÚM. DADOS	13	13	13
	COEF. VAR. (%)	9	11	12
AOV (mg/L)	MÉDIA	260 ± 68	85 ± 31	78 ± 28
	NÚM. DADOS	13	13	13
	COEF. VAR. (%)	26	32	35
NITROGÊNIO AMONIACAL ($mg\ N\text{-}NH_4/L$)	MÉDIA	12 ± 7	41 ± 13	43 ± 14
	NÚM. DADOS	7	7	7
	COEF. VAR. (%)	58	32	32

Tabela 5.16: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total, AOV e nitrogênio amoniacal nos Reatores A e B na Fase IV.

PARÂMETRO	ESTATÍSTICA	AFLUENTE A	AFLUENTE B	EFLUENTE A	EFLUENTE B
pH	MÉDIA	7,6 ± 0,2	7,5 ± 0,2	7,5 ± 0,2	7,6 ± 0,1
	NÚM. DADOS	24	24	24	24
	COEF. VAR. (%)	3	3	2	1
DQO (mgO_2/L)	MÉDIA	2.686 ± 232	2.618 ± 221	993 ± 155	1.118 ± 196
	NÚM. DADOS	24	24	24	24
	COEF. VAR. (%)	9	8	16	18
ALCALINIDADE TOTAL ($mg\ CaCO_3/L$)	MÉDIA	440 ± 71	443 ± 74	631 ± 79	651 ± 64
	NÚM. DADOS	23	23	23	23
	COEF. VAR. (%)	16	17	13	10
AOV (mg/L)	MÉDIA	140 ± 32	146 ± 57	152 ± 66	194 ± 62
	NÚM. DADOS	17	17	17	17
	COEF. VAR. (%)	23	39	44	39
NITROGÊNIO AMONIACAL ($mg\ N\text{-}NH_4/L$)	MÉDIA	12 ± 2	13 ± 4	48 ± 13	49 ± 9
	NÚM. DADOS	16	16	16	16
	COEF. VAR. (%)	17	31	26	19

Tabela 5.17: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total, AOV e nitrogênio amoniacal nos Reatores A e B na Fase V.

PARÂMETRO	ESTATÍSTICA	AFLUENTE A	AFLUENTE B	EFLUENTE A	EFLUENTE B
pH	MÉDIA	7,7 ± 0,2	7,6 ± 0,2	7,6 ± 0,2	7,7 ± 0,2
	NÚM. DADOS	20	20	22	22
	COEF. VAR. (%)	3	3	3	2
DQO (mgO_2/L)	MÉDIA	1.180 ± 97	1.163 ± 79	532 ± 77	527 ± 73
	NÚM. DADOS	26	26	26	26
	COEF. VAR. (%)	8	7	15	14
ALCALINIDADE TOTAL ($mg\ CaCO_3/L$)	MÉDIA	275 ± 55	272 ± 56	379 ± 72	403 ± 71
	NÚM. DADOS	22	22	22	22
	COEF. VAR. (%)	20	21	19	18
AOV (mg/L)	MÉDIA	134 ± 67	117 ± 53	91 ± 27	86 ± 22
	NÚM. DADOS	20	20	20	20
	COEF. VAR. (%)	49	46	29	26
NITROGÊNIO AMONIACAL ($mg\ N\text{-}NH_4/L$)	MÉDIA	17 ± 2	17 ± 3	64 ± 2	62 ± 3
	NÚM. DADOS	12	12	12	12
	COEF. VAR. (%)	13	19	3	4

Tabela 5.18: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total e AOV nos Reatores A e B na Fase VI.

PARÂMETRO	ESTATÍSTICA	AFLUENTE A	AFLUENTE B	EFLUENTE A	EFLUENTE B
pH	MÉDIA	7,4 ± 0,01	7,3 ± 0,01	7,5 ± 0,01	7,4 ± 0,01
	NÚM. DADOS	8	8	8	8
	COEF. VAR. (%)	1	1	2	1
DQO (mgO_2/L)	MÉDIA	1.155 ± 86	1.149 ± 75	477 ± 47	475 ± 56
	NÚM. DADOS	8	8	8	8
	COEF. VAR. (%)	7	7	10	12
ALCALINIDADE TOTAL ($mg\ CaCO_3/L$)	MÉDIA	217 ± 33	227 ± 22	328 ± 82	342 ± 78
	NÚM. DADOS	7	7	7	7
	COEF. VAR. (%)	15	10	25	23
AOV (mg/L)	MÉDIA	41 ± 4,8	36 ± 8,4	31 ± 10	37 ± 13
	NÚM. DADOS	5	5	5	5
	COEF. VAR. (%)	22	23	32	36

Tabela 5.19: Resumo dos valores médios e respectivos desvios-padrão de pH, DQO, alcalinidade total e AOV nos Reatores A e B na Fase VII.

PARÂMETRO	ESTATÍSTICA	AFLUENTE A	AFLUENTE B	EFLUENTE A	EFLUENTE B
pH	MÉDIA	7,5 ± 0,04	7,7 ± 0,01	7,6 ± 0,02	7,8 ± 0,01
	NÚM. DADOS	5	5	5	5
	COEF. VAR. (%)	4	1	2	1
DQO (mgO_2/L)	MÉDIA	559 ± 22	270 ± 31	433 ± 70	248 ± 47
	NÚM. DADOS	5	5	5	5
	COEF. VAR. (%)	4	11	16	19
ALCALINIDADE TOTAL ($mg\ CaCO_3/L$)	MÉDIA	107 ± 10	105 ± 5	173 ± 62	180 ± 66
	NÚM. DADOS	5	5	5	5
	COEF. VAR. (%)	10	7	36	37
AOV (mg/L)	MÉDIA	75 ± 15	46 ± 4	78 ± 9	52 ± 7
	NÚM. DADOS	5	5	5	5
	COEF. VAR. (%)	20	8	11	12

De acordo com as Tabelas 5.13 a 5.17 foi calculada a geração de nitrogênio amoniacal das Fases I até V. Nestas fases ocorreu um processo de amonificação dentro dos reatores, possivelmente causado pela alimentação rica em proteínas, oriunda do esgoto sintético (ES).

A geração de nitrogênio amoniacal é vista na Tabela 5.20.

Tabela 5.20: Geração média de nitrogênio amoniacal (mg $N\text{-}NH_4/L$) nos Reatores A e B da Fase I até a Fase V.

FASE	GERAÇÃO MÉDIA DE NITROGÊNIO AMONIACAL ($mg\ N\text{-}NH_4/L$)	
	REATOR A	REATOR B
FASE I	21	17
FASE II	29	22
FASE III	29	31
FASE IV	36	36
FASE V	47	45

Os dois parâmetros usados frequentemente para monitorar a estabilidade de reatores anaeróbios são a alcalinidade total (AT) e a intermediária (correspondente à alcalinidade devido aos ácidos voláteis - AI), pois o sucesso da operação depende da manutenção de concentrações adequadas de bicarbonato e impedimento de concentrações excessivas de ácidos voláteis. Assim, a relação AI/AT tem sido utilizada

para monitoramento da digestão anaeróbia de lodo de esgoto, considerando-se valores de 0,10 a 0,35 como típicos de digestores bem operados (RIPLEY et al., 1986).

O método recomendado para determinar a alcalinidade total (STANDARD METHODS, 1995) indica a titulação da amostra até pH de 4,30; a qual não mede somente a capacidade tampão devido ao bicarbonato, mas também dos ácidos voláteis (RIPLEY et al., 1986). Para prevenir a inclusão da capacidade tampão dos ácidos voláteis no valor da alcalinidade, Jenkins et al. (1983) propuseram a titulação da amostra até pH 5,75; argumentando que assim teria-se a determinação de 80% do bicarbonato e somente menos de 20% dos ácidos voláteis. RIPLEY et al. (1986) denominaram o valor obtido dessa forma de alcalinidade parcial (AP), considerando que correspondia grosseiramente à alcalinidade devido ao bicarbonato, e o valor obtido com a titulação da amostra de pH 5,75 até 4,30 denominou de alcalinidade intermediária (AI), considerando que se aproximava da alcalinidade devido aos ácidos voláteis. Baseando nisso, RIPLEY et al. (1986) estabeleceram a relação AI/AP (considerando-se os mesmos valores de 0,10 a 0,35) que requer somente um procedimento analítico, como análoga à relação AI/AT que requer duas determinações separadas. Essa relação é usada como indicador de equilíbrio entre a acetogênese e a metanogênese no reator.

O valor e a estabilidade do pH em reatores anaeróbios são importantes. Este deve se manter na faixa da neutralidade, entre 6,6 e 7,6 (McCarty, 1964). Entretanto, alguns microrganismos que metabolizam outros substratos tais como metanol, metilaminas, hidrogênio e dióxido de carbono, podem atuar com o pH fora da faixa citada (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994). Segundo Speece, (2008) o pH para o bom desempenho do processo anaeróbio pode se situar numa faixa entre 6,5 e 8,2. A ocorrência de mudanças bruscas no pH pode afetar negativamente o processo. No caso dos reatores a faixa de pH afluente média ficou dentro da neutralidade em todas as fases. Embora, em ambos os reatores, tiveram alguns valores altos (por vezes acima de 8,0), podendo indicar que as arquéias metanogênicas (pH ótimo 6,6 a 7,4) não estavam utilizando-se de sua capacidade degradativa máxima em virtude de sua maior sensibilidade ao pH elevado. O pH de saída médio foi de aproximadamente 7,5 em todas as fases.

Porém, os resultados de Ebrahimipour et al. (2005) mostraram que as condições ótimas para a biodegradação de petróleo, usando bactérias halotolerantes previamente isoladas, foram com o de pH 8,5 e uma salinidade de 0-5% de NaCl. Além disso, o teor

de nitrogênio e fósforo mínimos, nas fontes usadas, para degradar 1 grama de óleo cru foram iguais a 292 mg de NH_4Cl e 36 mg de Na_2HPO_4, respectivamente.

Neste sentido, alguns valores de AOV, superiores no efluente em relação ao afluente (Tabelas 5.13 a 5.19 e 5.22) podem indicar que parte do substrato orgânico biodegradável era biotransformado em AOV pelas bactérias acidogênicas, mas em virtude do pH, muitas vezes não estar ótimo para as metanogênicas estas não eram capazes de transformar todos estes ácidos livres no meio em CH_4 e CO_2.

Em ambos reatores a alcalinidade parcial (devida a bicarbonato) predominou sobre a intermediária (devida a ácidos fracos), como era de se esperar, uma vez que era adicionado bicarbonato de sódio no preparo do esgoto sintético (ES). Vale comentar que o bicarbonato de sódio era adicionado para uma concentração de 600 mg/L (para uma DQO de 1.500 mg/L), mas certamente o extrato de carne utilizado na preparação do substrato apresentava elevada concentração de ácidos voláteis este consumia a alcalinidade adicionada ao esgoto sintético, reduzindo a alcalinidade. Mesmo assim, a alcalinidade disponível proporcionou à mistura afluente valores de pH entre 7,4 e 7,8.

Devido à atividade anaeróbia e o processo de amonificação (Tabela 5.20), o efluente dos dois reatores, em todas as fases, sempre apresentou valores de alcalinidade superiores ao afluente durante todo o período de operação, como pode ser observado nas Tabelas 5.13 a 5.19. A alcalinidade a bicarbonato permaneceu no mínimo em torno de 100 mg $CaCO_3$/L ao longo de todo o experimento, podendo-se concluir que a produção de alcalinidade foi suficiente para proporcionar condições estáveis para a operação dos reatores e manutenção do pH na faixa da neutralidade, apesar de um discreto aumento no efluente dos reatores ter sido observado.

O monitoramento da alcalinidade em sistemas anaeróbios é considerado mais eficaz que o do pH, já que a escala da alcalinidade é linear e a do pH logarítmica. Assim, pequenas alterações de pH podem representar alto consumo ou produção de alcalinidade, alterando a capacidade tampão do sistema.

Então, com base na análise das tabelas e gráficos anteriores, foi calculada a geração média de alcalinidade total, vista na Tabela 5.21. Além da relação entre a alcalinidade intermediária e a alcalinidade parcial (AI/AP).

Tabela 5.21: Geração média de alcalinidade e relação entre a alcalinidade intermediária e parcial (AI/AP) ao longo das fases operacionais dos Reatores A e B.

FASES		FASE I	FASE II	FASE III	FASE IV	FASE V	FASE VI	FASE VII	FASE VIII	FASE IX
REATOR A	DQO AF (mgO_2/L)	1.176	2.394	2.346	2.686	1.180	1.155	559	465	624
	ALCALINIDADE AF ($mgCaCO_3$/L)	265	796	582	440	275	217	107	102	97
	ALCALINIDADE EF ($mgCaCO_3$/L)	496	1005	735	631	379	328	173	131	118
	GERAÇÃO DE ALCALINIDADE ($mgCaCO_3$/L)	231	209	153	191	104	111	66	29	21
	RELAÇÃO AI/AP	0,27	0,20	0,24	0,42	0,35	0,48	0,19	0,15	0,22
REATOR B	DQO AF (mgO_2/L)	1.176	2.394	2.346	2.618	1.163	1.149	270	283	578
	ALCALINIDADE AF ($mgCaCO_3$/L)	265	796	582	443	272	227	105	104	98
	ALCALINIDADE EF ($mgCaCO_3$/L)	484	1049	734	652	403	342	180	110	120
	GERAÇÃO DE ALCALINIDADE ($mgCaCO_3$/L)	219	253	152	208	131	115	75	6	22
	VARIAÇÃO DA RELAÇÃO AI/AP	0,25	0,23	0,28	0,44	0,31	0,53	0,22	0,17	0,32

De acordo com a Tabela 5.21, nota-se que, em todas as fases, a alcalinidade inicial correspondia a aproximadamente 20% da DQO afluente aos reatores.

No Reator A a geração de alcalinidade foi diminuindo gradativamente. Da Fase III para a Fase IV a relação entre a alcalinidade intermediária e parcial (AI/AP) subiu muito (de 0,24 para 0,42), voltando a diminuir um pouco na Fase V (0,35) e subindo de novo na Fase VI (0,48). A relação AI/AP nas três últimas fases voltou a valores considerados ideais em sistemas anaeróbios (RIPLLEY et al., 1986), cerca de 0,20. Isso possivelmente está relacionado ao teor de sódio, que foi regulado para oscilar em valores próximos de 3.000 mg/L. Esse valor é tido como praticamente inibitório por McCarty (1964), mas como o consórcio microbiano presente já estava adaptado a salinidades com valores superiores o processo anaeróbio recuperou a estabilidade que teve no início. Essa recuperação em termos de relação com a alcalinidade também foi observada no Reator B. Porém, como este não recebeu substrato de fácil degradação as relações foram superiores, mas ainda consideradas normais para o sistema, pois foram inferiores a 0,35 (RIPLLEY et al., 1986).

Os ácidos voláteis possuem estreita relação com a alcalinidade. Os ácidos formados no processo tendem a reduzir o pH tornando-o ácido e inadequado aos processos anaeróbios. Neste sentido o efeito tamponante da alcalinidade evita quedas bruscas e oscilações freqüentes do pH. Metcalf e Eddy (1991), sugerem valores abaixo de 250 mg/L. Todos os teores médios foram inferiores a esse valor, exceto os valores médios afluentes na Fase III (Tabelas 5.13 a 5.19). Porém, foi observado (Tabelas 5.13 a 5.19) que as concentrações de ácidos orgânicos voláteis (AOV) no afluente dos reatores geralmente estavam elevadas, em comparação com os valores tipicamente observados para esgotos domésticos brutos (em torno de 50 mg/L) (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994). A exceção da Fase I, onde os valores foram inferiores.

De fato, outros autores observaram que as análises de ácidos orgânicos voláteis por titulometria, método de Dillalo e Albertson (1961), não representam valores reais dos ácidos presentes nas amostras. Gusmão (2005) utilizando esse método em análises de reatores anaeróbios considerou todos os dados inconclusivos.

Acredita-se que a presença do ácido carbônico, proveniente do processo de degradação e da própria agitação da amostra durante a realização da análise, interferiu na leitura dos ácidos orgânicos voláteis por ter sua concentração frequentemente alterada.

Portanto, para avaliar a produção de AOVs nos reatores, foi utilizada apenas uma variação entre os valores afluente e efluente, por se considerar que ambos estão sob a mesma condição de interferentes. Foi visto normalmente um consumo médio de ácidos orgânicos voláteis, mostrado na Tabela 5.22. Porém, na Fase IV houve geração de AOV (representado pelos valores negativos da Tabela 5.22), e nas Fases VI e VII o consumo foi muito pequeno ou houve pequena geração (Reator B).

Tabela 5.22: Consumo médio de ácidos orgânicos voláteis nos Reatores A e B da Fase I até a Fase VII.

FASE	CONSUMO MÉDIO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS (mg/L)	
	REATOR A	REATOR B
FASE I	158	155
FASE II	111	123
FASE III	175	182
FASE IV	-12	-48
FASE V	43	31
FASE VI	10	0
FASE VII	1	-6

Na Tabela 5.22 os valores negativos representam que houve geração de ácidos e não consumo (Reatores A e B, na Fase IV e Reator B na Fase VII). Porém, deve-se atentar para os altos desvios padrões nas médias desse parâmetro (Tabelas 5.13 a 5.19), que confirmam a inadequação do método e assim a imprecisão dos resultados.

Um desequilíbrio da digestão anaeróbia (acidogênese/metanogênese) pode ocasionar produção de ácidos em excesso. Esse efeito pode ser mascarado pelo pH caso haja no sistema alcalinidade suficiente para neutralizar os ácidos. Acreditava-se que nos sistemas de tratamento de águas residuárias contendo elevadas concentrações de cloretos de sódio, de potássio e de magnésio, a toxicidade observada era causada pelos ácidos voláteis produzidos. No entanto, pioneiramente, McCarty e McKinney (1961) demonstraram que a toxicidade nesses sistemas estava relacionada com o cátion dos sais (sódio, potássio e magnésio). Os ânions apresentaram efeitos relativamente menores e associados a propriedades como o pH do meio.

O efeito da elevada concentração de sódio sobre o tratamento anaeróbio, em uma pesquisa, foi avaliado por Speece (1996). Os autores concluíram que, sob elevada salinidade, a metanogênese foi a etapa mais prejudicada, sendo a etapa limitante do processo de degradação. No entanto, para biomassa pré-adaptada os autores sugerem que o efeito bacteriostático foi maior que o efeito bactericida do Na^+. Kugelman e McCarty (1965) também observam que os organismos metanogênicos são mais sensíveis aos efeitos tóxicos dos cátions do que os organismos acidogênicos.

Sendo assim, com os altos teores afluentes de cátions, em ambos reatores, chegou-se a conclusão que a metanogênese foi altamente prejudicada e consequentemente a produção de biogás.

Em geral, a concentração máxima de Na^+ que pode ser aplicada aos processos anaeróbios é de 10.000 mg/L. No entanto, de acordo com Speece (1996), concentrações maiores podem ser atingidas, caso a biomassa seja submetida a processo de adaptação, por meio de aumento gradativo da concentração de Na^+. Isto está de acordo com De Baere et al. (1984), que afirmaram que a adaptação para o aumento gradativo de NaCl afetou significativamente a tolerância da associação da metanogênese quando comparada com a adição única de NaCl. Isso sugere que além da salinidade, outros compostos tóxicos da AP influenciaram na baixa eficiência do sistema e geração de biogás, já que esse foi submetido a adaptação e funcionava com teores de sódio menores que 7.000 mg/L.

Tendo em vista os resultados dos testes complementares de biodegradação usando metanol, o objetivo das últimas duas fases do Reator A foi avaliar se sobre essa biomassa já adaptada a salinidade, a mudança de co-substrato para metanol e a posterior excessiva suplementação nutricional (Fase IX) melhoraria a eficiência e as condições do sistema contínuo. Porém isso não ocorreu.

A determinação de relações ótimas de C:N:P, ou em termos práticos de DQO:N:P, para degradação anaeróbia apresentam valores variados na literatura, sendo consenso que essa relação varia em função do resíduo e das condições ambientais. O seu conhecimento e a sua correlação com a otimização do processo degradativo são de importância crucial para a melhoria operacional de sistemas anaeróbios.

Nesse sentido e visando a melhoria do processo, a suplementação de macro-nutrientes foi feita com cloreto de amônia (NH_4Cl) para nitrogênio e com fosfato de potássio (K_2HPO_4) para fósforo, nas três últimas fases. A proporção de DQO:N:P de 300:5:1 usada nas Fases VII (Reator B) e VIII (ambos reatores) foi baseada no trabalho de Ji et al. (2009), onde o autor destaca que seria suficiente para os sistemas anaeróbios. Em todas as outras fases anteriores essa relação mínima (300:5:1) foi mantida, pois o ES satisfazia essa condição.

De acordo com Vieira et al. (2009) a proporção DQO:N:P de 100:20:2,7 seria considerada como ótima para remoção de hidrocarbonetos totais de petróleo (por via aeróbia). Mesmo tendo sido um trabalho desenvolvido com microrganismos aeróbios utilizou-se a relação citada por esses autores, na Fase IX, (Reator A) na forma de se ter excesso nutricional dentro do sistema e assim avaliar o seu comportamento. A relação de 100:5:1 é citada como a mínima necessária, segundo Speece (2008), o trabalho de Lu et al. (2009) também usou essa relação, sendo assim usada no Reator B na Fase IX, já que maior que a anteriormente mantida. Speece (2008) também reforça que no meio anaeróbio a quantidade de nutrientes é proporcionalmente menor quando comparada ao processo aeróbio, devido as características de síntese de biomassa dentro do sistema.

Resumindo, na Fase IX, a suplementação de macro-nutrientes no Reator A foi na proporção DQO:N:P de 100:20:2,7 e no Reator B de 100:5:1. Superiores a utilizada nas fases anteriores, que foi de 300:5:1.

Na Fase VI ocorreu a mudança de TDH para 48 horas e uso das mesmas condições da Fase V, mas não houve melhoria considerável de eficiência de remoção de DQO nos reatores (de aproximadamente 54% para 58%). Possivelmente pelos altos

teores de sódio e cálcio (aproximadamente 7.000 mg Na^{+}/L e 2.500 mg $Ca^{2+/}$L), considerados inibitórios por McCarty (1964).

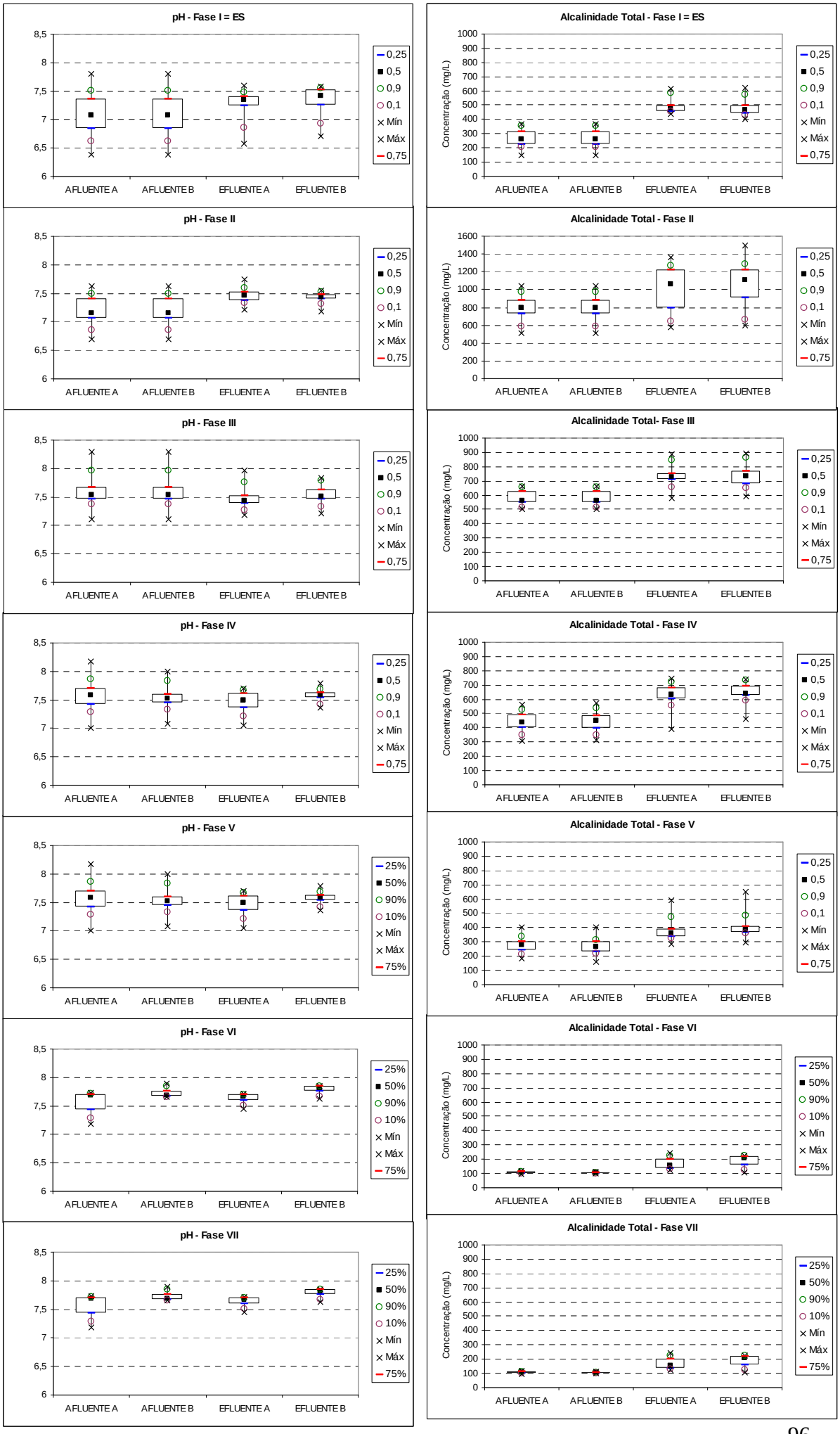
Ao final da Fase VII foi visto que ao se diminuir o substrato de fácil degradação a eficiência foi diminuindo (Reator A: de 58,7% para 22,6%) e ao se retirar completamente o substrato (Reator B) só foi obtido 8,8% de eficiência, contra os 58,8% anteriores. Na Fase VIII o uso do metanol melhorou um pouco a eficiência de remoção de DQO no Reator B, chegando a 11,3%. No Reator A a mudança de substrato de ES para metanol levou ao aumento da eficiência para 33,3%. Nessas fases o TDH foi de 48 horas.

A suplementação nutricional na última fase (Fase IX), não foi favorável, levando os reatores praticamente ao colapso (eficiências médias finais de remoção de DQO de 7,3 e 8,2%). Talvez devido ao pouco tempo para adaptação do consórcio microbiano ou que as espécies presentes não necessitavam desse complemento. Pois, na literatura é citado um trabalho onde a relação de nutrientes era baixa (DQO:N:P de 1200:15:1), mas mesmo assim a média de remoção de DQO (reator compartimentado anaeróbio) ainda era viável (65%) (Ji et al., 2009). Porém TDH foi bastante elevado (60 horas). Nessa pesquisa a AP foi retirada depois do separador de água e óleo e do flotador da unidade de tratamento.

Ainda com relação a parâmetros nutricionais, Atlas (1981), numa primeira revisão sobre o tema, conclui que não existe um consenso se os nutrientes (nitrogênio e fósforo) podem ser considerados, ou não, limitantes na biodegradação do petróleo em ambientes salinos.

Margesin e Schinner (2001), na sua revisão citam que as arquéias halófilas mantém um balanço de pressão osmótica em ambientes hipersalinos pelo acumulo de altas concentrações de sal, as quais requerem adaptação ao sal das enzimas intracelulares. Nessa pesquisa são mostrados diversos estudos onde os nutrientes têm efeito adverso sobre as diferentes bactérias de uma cultura mista e complexa (como um lodo de reator) e assim sobre os hidrocarbonetos que elas degradam, podendo até, a depender do grupo presente, não favorecer a biodegradação.

Os gráficos tipo box-plot, ilustrados nas FIG. 5.10 a 5.13, mostram os parâmetros analisados e o comportamento dos Reatores A e B até a Fase VII. No APÊNDICE encontram-se os gráficos com as análises realizadas ao longo desse período operacional.



5.10: Variação do pH e da alcalinidade total ao longo das Fases I-VII.

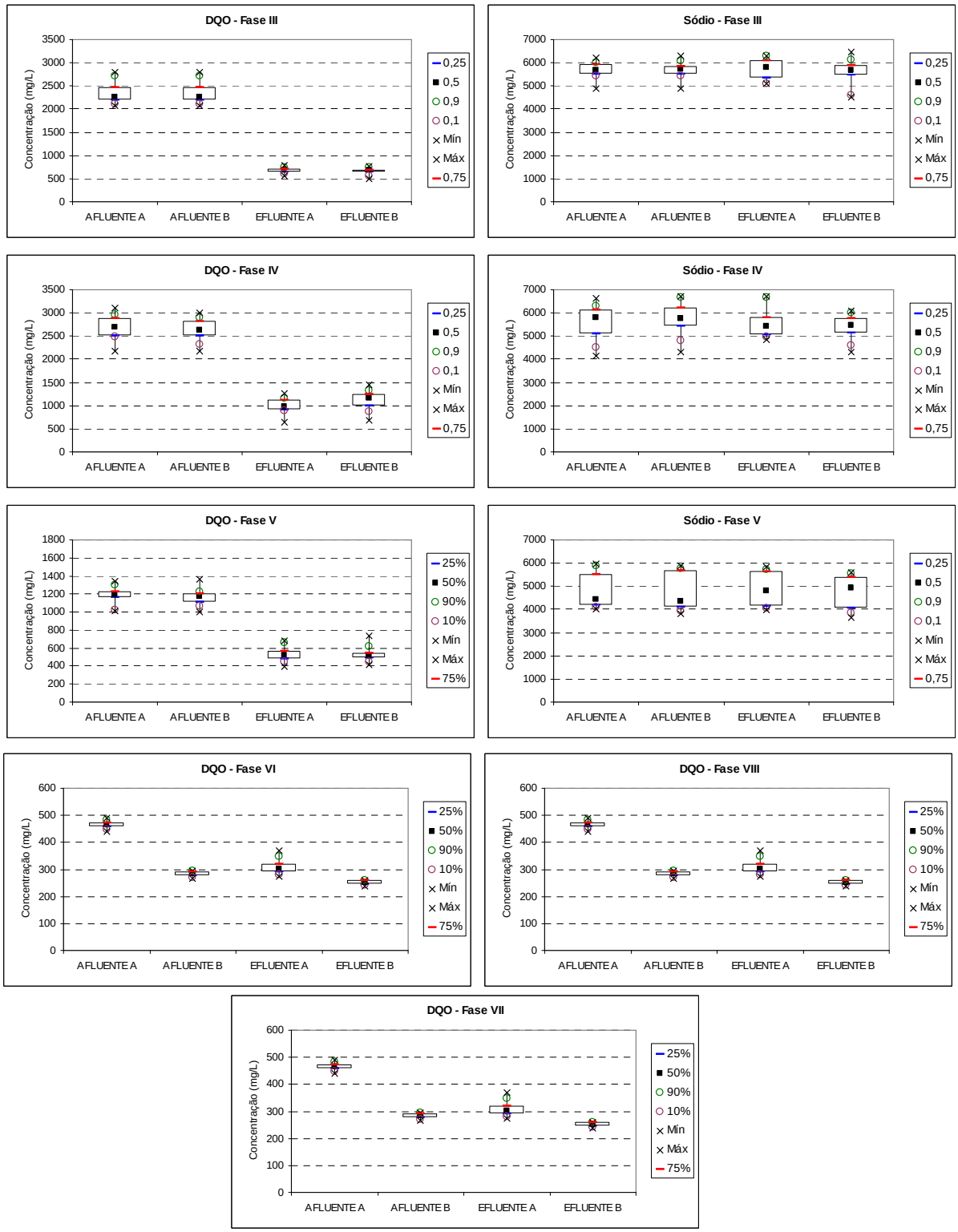


Figura 5.11: Variação da DQO ao longo das Fases I-VIII e da salinidade (sódio) ao longo das Fases I-V.

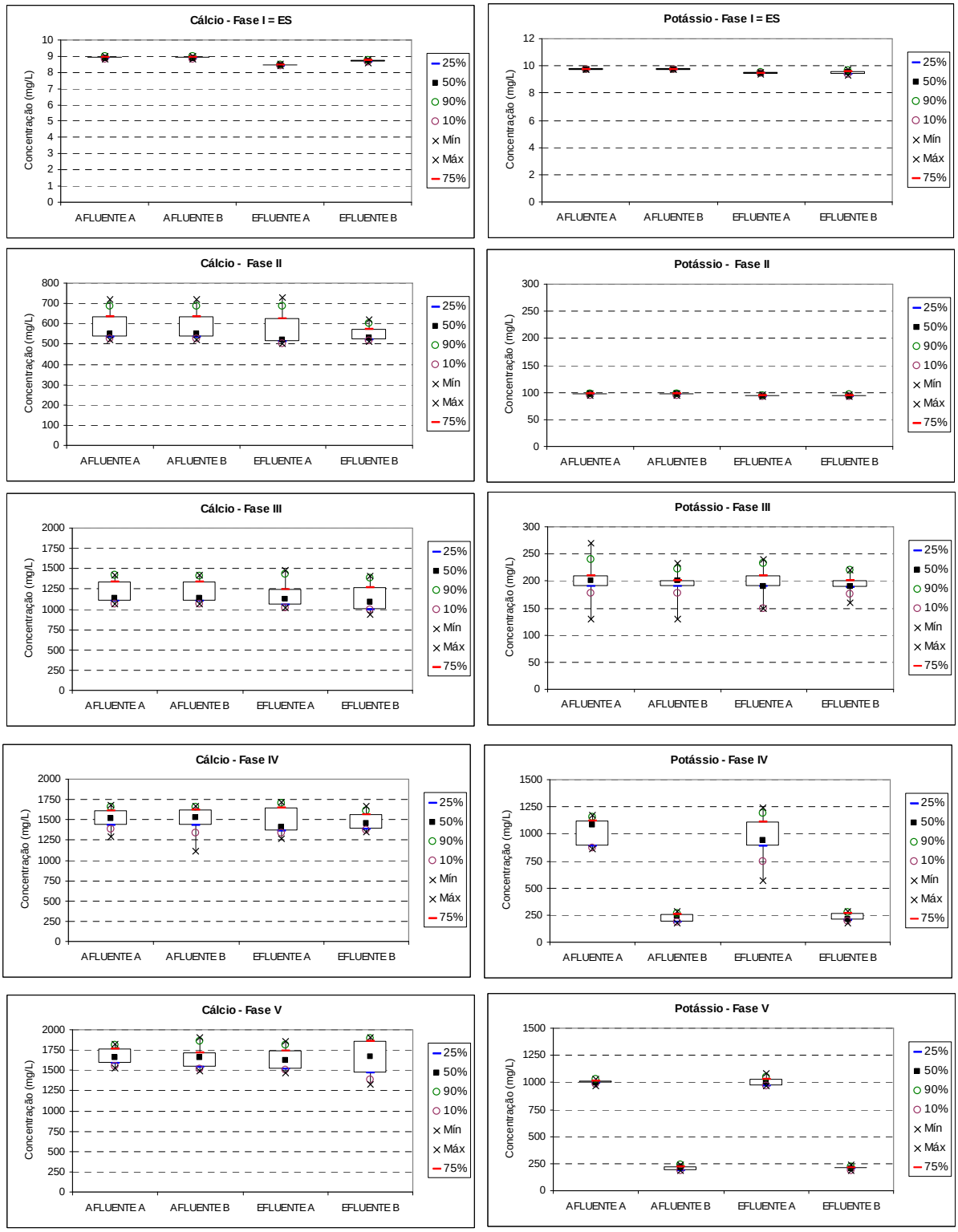


Figura 5.12: Variação dos teores de cálcio e potássio ao longo das Fases I-V.

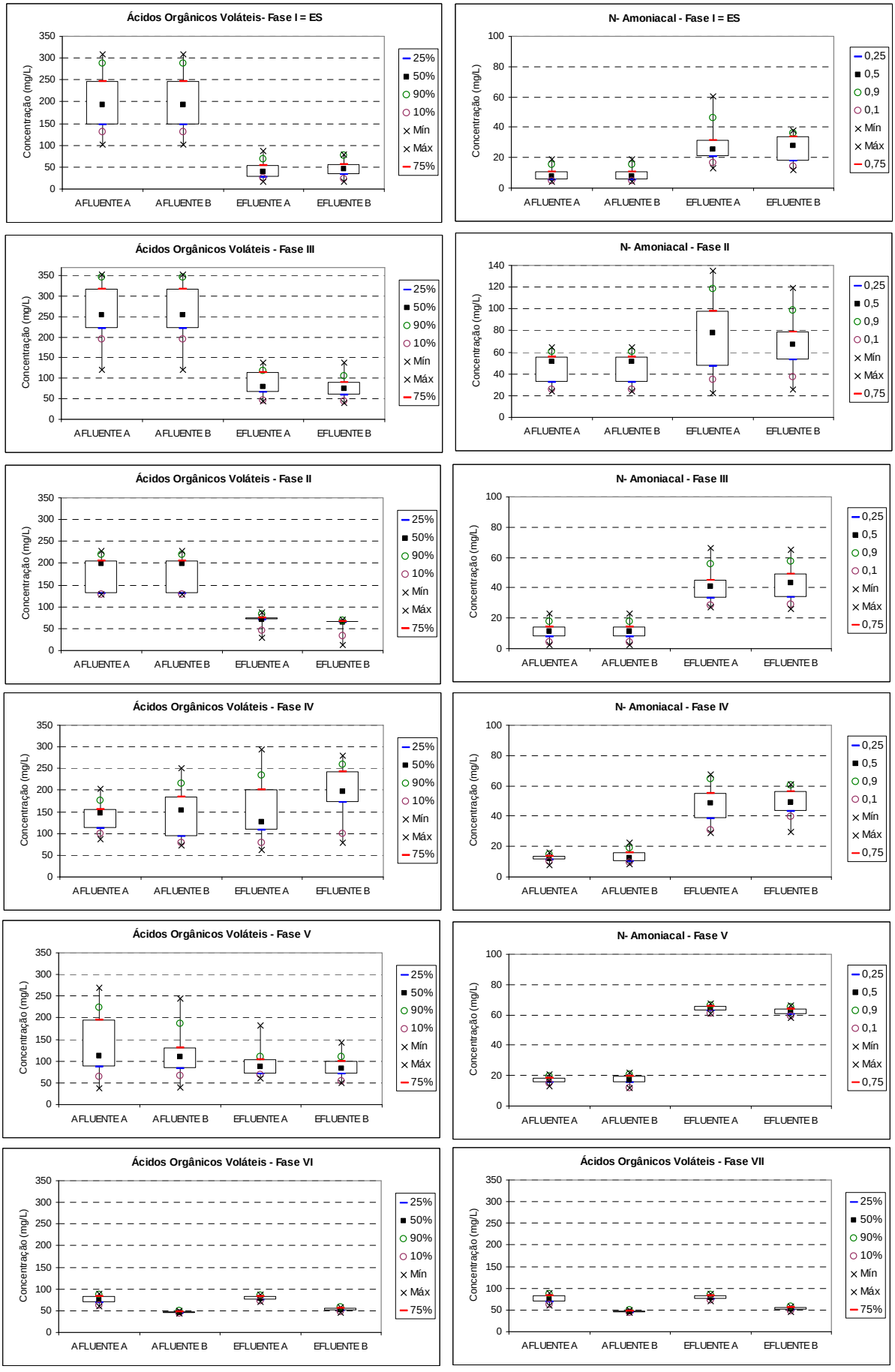


Figura 5.13: Variação dos teores de AOV ao longo das Fases I-VII e nitrogênio amoniacal ao longo das Fases I-V.

No trabalho concluído por Santos (2009), usando a mesma AP dessa pesquisa, o autor testou algumas variáveis (pH, variação das velocidades de rotação e temperatura) no sentido de otimizar o tratamento de flotação existente na UN-SEAL. Conclui-se que a flotação por ar dissolvido, não foi uma tecnologia indicada para a remoção de DQO com resultados baixo de 25%. Com o polieletrólito Tanfloc (utilizado na UN-SEAL) a remoção de turbidez foi de até 90%. Além de que, este coagulante mostrou a melhor formação de flocos. Nesse trabalho a sedimentação também não apresentou boas remoções de DQO.

O exemplo do uso de tratamento físico-químico, aliado aos trabalhos vistos na revisão de literatura, poderia indicar que, em termos de remoção de matéria orgânica, o uso do sistema biológico anaeróbio deveria se mostrar mais atraente, pois seria mais eficiente e com menores custos. Porém, as baixas eficiências de remoção de DQO (55%), com diluições de cerca de 10% de AP, não viabilizaram essa perspectiva.

A dificuldade do tratamento de efluentes complexos em condições salinas provavelmente é relacionada com o elevado número de estágios intermediários necessários para a sua degradação: quando aumenta o número de estágios, a probabilidade aumenta também que uma destas fases possa ser inibida pela salinidade (LEFEBVRE et al., 2007).

A alta salinidade (média de 46.474 mg Na^{+}/L) e os altos volumes gerados (430 m^3/dia), além dos poluentes próprios dessa AP, foram os fatores que mais se destacaram na afirmação da não viabilidade do uso do tratamento biológico na UN-SEAL, dentro das limitações desse estudo.

Sendo assim destacam-se algumas pesquisas, com AP de baixa salinidade, que demonstram o uso eficiente da via anaeróbia para água de produção *onshore*. Seja em escala plena, com reator UASB (RICÓN et al., 2002) ou de laboratório (VIEIRA, et al., 2003). Em escala real e para AP com alta salinidade (1.15 a 1.46%) o trabalho de Ji et al. (2009), mostrou média de remoção de DQO (com reator compartimentado anaeróbio) de 65%, com um alto TDH (60 horas).

A pesquisa realizada usou uma água de produção de petróleo com parâmetros similares à do trabalho de Ji et al. (2009), mas mesmo assim não obteve esses resultados com a AP *in natura*. Isso leva a pensar que além da grande influência do tempo de detenção usado (24 horas) as peculiaridades da AP devem ser levadas em consideração, pois a salinidade usada nos reatores foi bem inferior, além de ter sido introduzido um substrato facilmente degradável.

Ainda em termos de comparação de resultados, Barros (2009), utilizou a mesma AP dessa pesquisa, sendo tratada em reator em batelada seqüencial anaeróbio, com ciclos de 24 horas. O autor obteve, com 10% de AP e 90% de ES, o que correspondia a um teor de sódio de 5.039 mg Na^+/L, uma eficiência de remoção de DQO de 56,1%. Resultado um pouco superior ao encontrado na presente pesquisa na Fase IV, em que os reatores UASB estavam operando em condições similares (54,8%).

Field et al. (1988), destacam que algumas substâncias encontradas em diversos tipos de efluentes podem conter compostos inibidores da atividade metanogênica, incluindo os metais alcalinos terrosos (sobretudo Na^+, Mg^{2+} e Ca^{2+}), dentre outros.

Estes mesmos autores destacam que os compostos inibidores pode ser classificados de acordo com seu padrão de toxicidade, podendo ser distinguidos três tipos: metabólicos, fisiológicos e bactericidas. Na Tabela 5.23 apresenta-se um detalhamento dos efeitos dos padrões de toxicidade nos microrganismos em função do tempo de exposição.

Tabela 5.23: Detalhamento dos efeitos dos padrões de toxicidade nos microrganismos em função do tempo de exposição.

Tipo de toxina	**Durante a exposição**	**Imediatamente depois da exposição**	**Em longo prazo**	**Efeito nos microrganismos**
	RESPOSTA DA ATIVIDADE MICROBIANA			
Atóxica	Alta	Alta	Alta	Sem dano
Metabólica	Baixa	Alta	Alta	Sem dano
Fisiológica	Baixa	Baixa	Alta	Componentes sub-celulares danificados
Bactericida	Baixa	Baixa	Baixa	Toda a célula é prejudicada

Fonte: Adaptado de FIELD et al., 1988.

De acordo com Field et al. (1988), o padrão de inibição pode ser esclarecido a partir da retirada do composto tóxico (no caso dos experimentos, quando o TDH foi dobrado, Fase VI, ou o teor de sódio diminuído para a metade, Fase VII). No caso do padrão de inibição metabólica as alterações na atividade celular são reversíveis e de rápida recuperação. No caso do padrão fisiológico, a atividade pode ser recuperada a níveis iniciais, entretanto, a recuperação é mais lenta; porém, o incremento na atividade é superior, o que correspondente ao crescimento de novas células. Os compostos enquadrados no padrão bactericida ocasionam geralmente a morte das células sendo que

o incremento da atividade, só ocorre após a retirada do composto bactericida, sendo proporcional ao crescimento celular. Os efeitos inibitórios podem diminuir em virtude da adaptação do lodo às condições ambientais, que podem ser reais ou indiretas, devido principalmente às rotas degradativas alternativas ou modificação biológica da toxina. Destaca-se que estes tipos de adaptação são mais freqüentes para toxinas orgânicas biodegradáveis. É sugerido então que, inicialmente se apliquem cargas sub-inibitórias da toxina, evoluindo crescentemente a valores capazes de adaptação (FIELD et al., 1988), tal como foram conduzidas as fases com os reatores. Analisando os resultados é sugerido que o tipo de toxicidade seja metabólica, pois a AP contêm compostos enquadrados nesse padrão e mesmo com as diversas mudanças operacionais nos reatores UASB, visando a melhoria da degradação de DQO esta não ocorreu. Os testes de biodegradação anaeróbia (FIG. 5.14 e 5.15), usando metanol, com correção e sem correção da salinidade (para níveis em que a biomassa estava adaptada nos reatores) tiveram resultados um pouco melhores sem corrigir a salinidade, indicando a inibição metabólica, onde rapidamente a biomassa volta a se recuperar e apresenta uma atividade alta logo após a inibição.

Além de outros fatores, o concomitante elevado teor de cálcio (de 597 a 2.498 mg Ca^{2+}/L) em todas as fases dos reatores, pode ter prejudicado a eficiência da biomassa. Pois, embora o cálcio não exerça um severo efeito diretamente tóxico, foi reportado (LETTINGA, et al., 1987) que precipitados de $CaCO_3$ e/ou $Ca_3(PO_4)_2$ possam se depositar na biomassa. E que concentrações de 400 mg Ca^{2+}/L já poderiam causar precipitação, resultando em limitação de transporte de substrato. Ji, et al. (2009) também observou a precipitação de cristais de $CaCO_3$ dentro do lodo de um reator anaeróbio tratando AP com concentração de sal de 1.15-1.46%. Nos experimentos realizados a análise do lodo dos reatores, com difração de raios X, por exemplo, poderia comprovar essa suspeita já que os mesmos operaram por longo período com altas concentrações de cálcio (Tabela 5.12).

5.2.1- Análise estatística

Os resultados da ANOVA estão descritos na Tabela 5.24.

Tabela 5.24: Valores encontrados com a ANOVA.

ANOVA						
F.V.	**G.L.**	**SQ**	**QM**	**Fo**	**F 0,05**	**F 0,01**
TRATAMENTO	12	25953,95	2162,829524	194,12174	2,7534**	2,18776
RESÍDUO	117	1303,569	11,14161386			
TOTAL	129	**27257,52**				
	I=	13				
	J=	10				

Após a constatação que existiam diferenças, fez-se então necessária a investigação da máxima diferença significativa aceitável, que foi detectada pelo teste de Tukey. De posse destes resultados foi possível comparar os valores de eficiência de remoção de DQO. Tal comparação foi eficiente na busca pela comparação entre os Reatores A e B na Fase I, com o objetivo de saber se eles apresentavam realmente comportamento consideravelmente semelhante; e pela determinação do momento exato de mudança de fase e se esse foi ideal.

Quando os reatores não mais apresentaram diferença máxima significativa teve-se confiança para aumentar a carga orgânica e adicionar a água de produção, em ambos os reatores. Isso ocorreu da Fase I para II.

O resultado da ANOVA demonstrou que existiu uma diferença significativa entre os tratamentos. Tal resultado direcionou os estudos na busca dessa diferença e para a comparação das médias. Houve diferença quando mudou de Fase da I para II com a adição da água de produção.

De acordo com as tabelas geradas pela ANOVA, observa-se que o Reator A não apresentou diferença significativa em relação ao Reator B, na Fase 1, nem a 5% e nem a 1% de grau de confiança.

Os dados do teste de Turkey mostraram que os reatores apresentaram comportamento semelhante e que podem ser comparados como um sendo réplicas um do outro. Observa-se também que a adição de 5% da AP não alterou a condição anteriormente constatada. A comparação foi feita entre as fases operacionais, e também entre os Reatores A e B.

Da Fase III para IV, posto que após a constatação de diferença abaixo da considerada significativa, observa-se que os sistemas estavam com características semelhantes e que poderia receber a adição de antagonizante e atribuir a este qualquer alteração observada.

Para a comparação do efeito da adição do íon antagonizante (potássio). Nesta Fase (IV) o Reator B comportou-se como uma testemunha e o Teste de Tukey foi utilizado para determinação do efeito do antagonizante na comparação do Reator A com o B.

Para a Fase V o Reator B também exibiu comportamento como testemunha e o Teste de Tukey foi utilizado com o objetivo de comparar o efeito da redução de carga orgânica. Da mesma forma, para a Fase VI foi comparado o efeito no aumento do TDH.

Em resumo, as conclusões do teste estatístico usado foram que:

- Os reatores puderam ser considerados como réplicas;
- No início da adição da AP (Fase II), eles continuaram como réplicas, mas com essa adição a eficiência de remoção de matéria orgânica caiu significativamente em ambos reatores;
- A adição do potássio, no Reator A, como íon antagonizante (Fase IV), na proporção de 1.000 mg K^+/L, não gerou alteração significativa em comparação ao Reator B que não recebeu a suplementação (200 mg K^+/L);
- A redução pela metade da DQO na mistura afluente, da Fase IV para V, com praticamente o mesmo teor de sódio (aproximadamente 5.000 mg Na^+/L, Tabelas 5.9 e 5.10) não melhorou significativamente a eficiência de remoção de matéria orgânica;
- A elevação do TDH, na Fase VI, não trouxe melhoria na eficiência de remoção de DQO nos dois reatores.

5.3- Testes complementares

Os resultados dos testes aeróbios ou anaeróbios, analisados serviram de orientação a respeito de como conduzir a mudança de fase nos reatores UASB, principalmente quanto a mudança de co-substrato para metanol ou da sua retirada do meio.

5.3.1- Testes de AME e de biodegradação anaeróbia

- **Teste 1**

O teste 1 foi realizado com correção de salinidade para os níveis que os reatores UASB estavam operando, final da Fase V (TDH de 24 horas) e com aproximadamente 5.000 mg Na^+/L. Os reatores operavam com ES e no teste o substrato foi modificado para metanol, com DQO inicial na mistura de 1.687 mg/L no Reator A e 1.627 mg/L no Reator B. O lodo foi coletado com 478 dias do experimento contínuo com o UASB e foram testadas duas concentrações de sólidos totais voláteis, 2 e 5 g STV/L dentro dos reatores.

Na FIG. 5.14 é mostrada a porcentagem de DQO removida e o volume de biogás gerado ao longo dos 20 dias desse experimento.

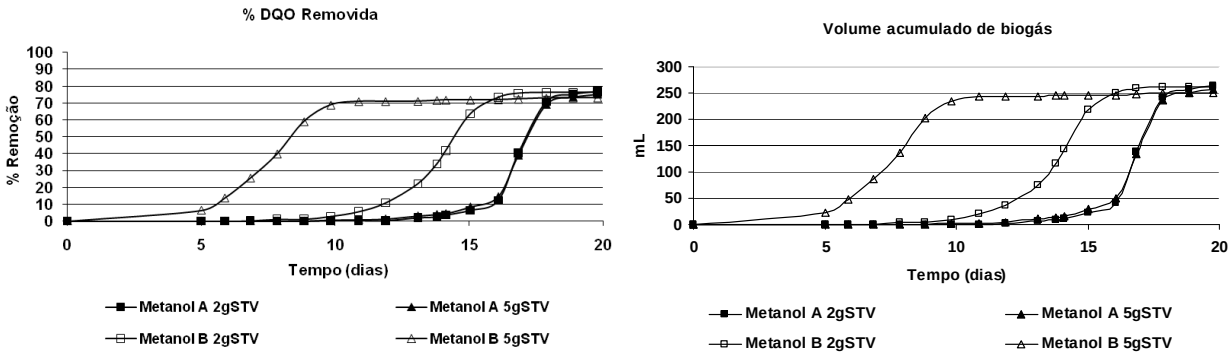


Figura 5.14: Porcentagem de DQO removida e volume de biogás gerado no teste 1 anaeróbio.

Na FIG. 5.14 é percebido que como foi realizada uma mudança brusca de co-substrato a biomassa apresentou uma grande fase lag, diferenciada entre os reatores pela a concentração de STV presentes. A maior quantidade de biomassa no Reator B acarretou menor fase lag, no Reator A essa diferenciação não ocorreu. A eficiência de remoção de DQO foi inferior a 90% num período de até 20 dias.

- **Teste 2**

O teste 2 foi realizado com correção e sem correção de salinidade para os níveis que os reatores UASB estavam operando, nesse caso, final da Fase VI (TDH de 48 horas) e com aproximadamente 7.000 mg Na^+/L. A salinidade nos reatores sem correção foi de 300 mg/L. Essa foi a última fase que os reatores operavam com ES e no

teste o substrato também foi bruscamente modificado para metanol, com DQO inicial na mistura de 1.400 mg/L nos dois reatores. O lodo foi coletado com 553 dias do experimento contínuo com o reator UASB e foi testada apenas a concentração de 5 g STV/L.

Na FIG. 5.15 é vista a porcentagem de DQO removida e o volume de biogás gerado ao longo dos 28 dias desse experimento.

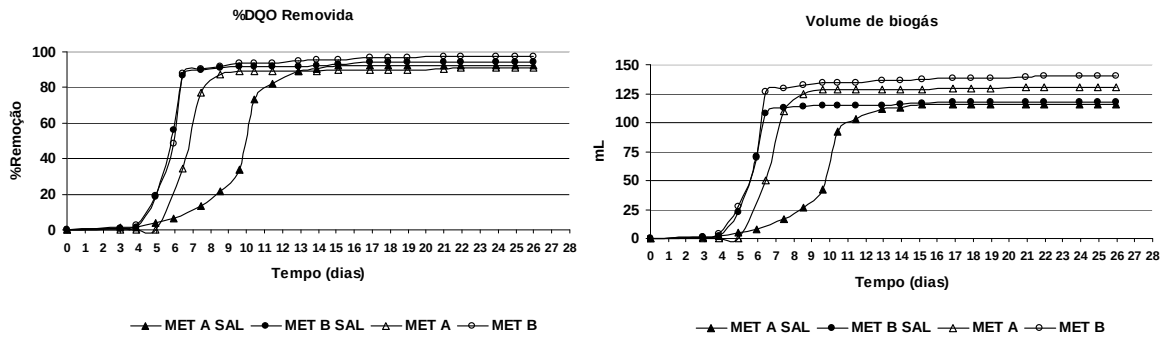


Figura 5.15: Porcentagem de DQO removida e volume de biogás gerado no teste 2 anaeróbio.

Neste teste foi observada menor fase lag e os resultados foram um pouco melhores sem a correção da salinidade, chegando-se a remoções de DQO de aproximadamente 90% num período menor que 10 dias. Como o lodo usado no teste foi retirado dos reatores UASB após a fase em que o TDH era de 48 horas, possivelmente a biomassa presente foi beneficiada pelo maior tempo de detenção dos reatores e assim expressou melhores resultados no teste 2.

Foi visto que culturas mistas adaptadas a elevadas concentrações de NaCl podem perder esta habilidade rapidamente quando expostas à pressões iônicas menores (WOOLARD e IRVINE, 1995), tal como ocorrido nos dois testes.

Speece (1996) relata que quando um tóxico inibe a atividade da biomassa em 50%, é preciso duas vezes mais biomassa para tratar uma dada quantidade de poluente orgânico, então para melhores resultados seria necessária uma maior concentração de STV no lodo de inóculo dos testes. Consequentemente o maior teor de STV (5gSTV/L) usado no teste 1 propiciou resultados semelhantes a menor concentração (2 gSTV/L) ao final do experimento.

5.3.2- Testes de biodegradação aeróbia

- **Teste 1**

Em meio aeróbio, a primeira condição testada foi usando o afluente preparado para o Reator B (AF) na Fase VII, que era composto da AP diluída em água (média de 3.387 mgNa^+/L), com a suplementação de macro-nutrientes, na proporção DQO:N:P de 300:5:1. O teste foi feito com 2 litros do afluente em cada reator, sendo um sem lodo de inóculo (AF), um com 0,5 L (AF + 0,5L) de lodo e um com 1 L de lodo (AF + 1L). Da mesma forma usou-se o efluente do Reator B no final da Fase VII (EF), a fim de verificar se após o tratamento anaeróbio os resultados seriam melhores. Nesse teste a Tabela 5.25 mostra a porcentagem de degradação aeróbia obtida a cada 24 horas. E a FIG. 5.16 mostra a porcentagem de remoção de DQO e o decaimento da DQO obtido usando o afluente (AF) e o efluente (EF).

Tabela 5.25: Porcentagem de degradação aeróbia.

TEMPO (horas)	PORCENTAGEM DE DEGRADAÇÃO (%)					
	AF	AF + 0,5L	AF + 1L	EF	EF + 0,5L	EF + 1L
0	0	0	0	0	0	0
24	4,2	10,4	5,0	10,2	4,5	42,8
48	18,8	48,4	39,7	20,2	20,5	45,3
72	21,4	49,3	42,1	23,7	22,9	46,7
96	23,6	50,5	45,7	26,3	27,2	49,2

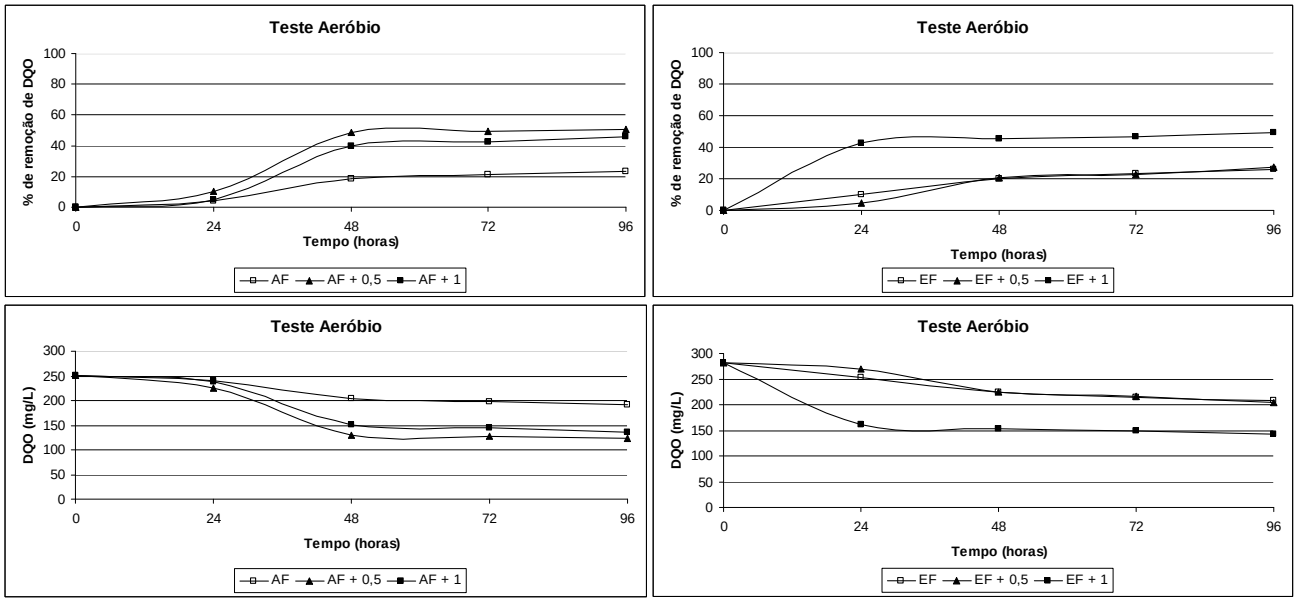


Figura 5.16: Porcentagem de remoção e decaimento da DQO, no teste aeróbio 1, usando o mesmo afluente (AF) ao reator anaeróbio na Fase VII e o seu efluente (EF).

Os resultados do teste 1 mostraram que usando o mesmo afluente ao Reator B observou-se que até 24 horas não há praticamente degradação. Com 48 horas usando lodo de inóculo (0,5 ou 1L), aproximadamente 45% da AP foi degradada (48,4 e 39,7%) e a porcentagem se manteve praticamente constante até 96 horas. Sem o uso de lodo apenas 19% do resíduo foi degradado. Ao utilizar o efluente do Reator B nota-se que após 24 horas já se iniciou a degradação, com 1 litro de lodo essa chegou a 43%. Sem lodo o uso de lodo ou com 0,5 L a degradação foi de cerca de 20%.

Com o teste pode-se avaliar que apesar da remoção de DQO no tratamento anaeróbio no Reator B (Fase VII) ter sido baixa (8,8%) o tratamento aeróbio ainda consegue remover mais a DQO recalcitrante, mesmo usando biomassa não adaptada.

Em resumo, com o afluente até 24 horas não há praticamente degradação. Com 48 horas usando lodo de inóculo, aproximadamente 45% da AP foi degradada e a porcentagem se manteve praticamente constante. Sem o uso de lodo apenas 19% foi degradado. Com o uso do efluente após 24 horas a degradação foi iniciada, com 1 litro de lodo chegou a 43%. Sem lodo o uso de lodo ou com 0,5L de lodo a degradação de DQO foi de cerca de 20%.

- **Teste 2**

Na segunda condição testada foi adicionado o co-substrato (metanol), na AP diluída também em cerca de 5%, com a mesma suplementação nutricional. Da mesma forma, a Tabela 5.26 mostra a porcentagem de degradação aeróbia obtida a cada 24 horas. E a FIG. 5.17 mostra a porcentagem de remoção de DQO e o decaimento da DQO obtido usando o afluente (AF), 0,5L de lodo (AF + 0,5L), 1 L (AF + 1L) e 1,5 L (AF + 1,5L).

Tabela 5.26: Porcentagem de degradação aeróbia.

TEMPO (horas)	**PORCENTAGEM DE DEGRADAÇÃO (%)**			
	AF	**AF + 0,5L**	**AF + 1L**	**AF + 1,5L**
0	0	0	0	0
24	4,3	41,1	41,7	36,1
48	8,0	43,0	42,4	38,5
96	12,3	48,4	46,7	39,8

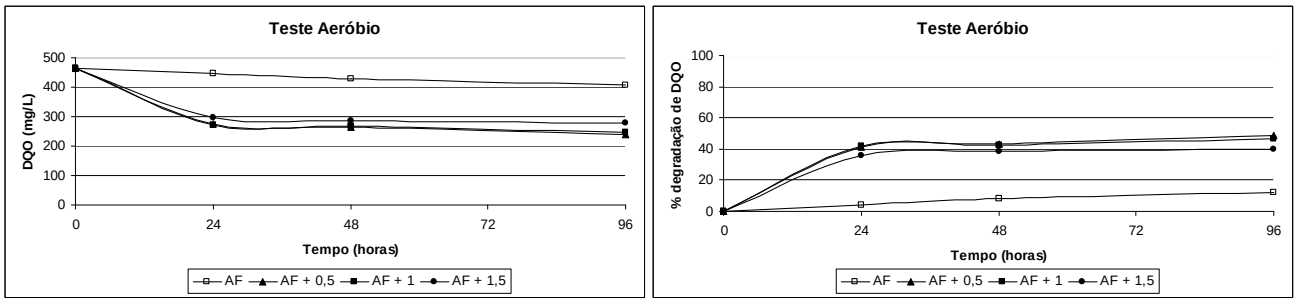


Figura 5.17: Decaimento e porcentagem de remoção de DQO no teste aeróbio 2, usando mesmo afluente ao reator anaeróbio na Fase VII.

Nesse teste com o uso de metanol houve melhoria da degradação. Com 24 horas de teste e uso de lodo a degradação foi de cerca de 42%. Observou-se também que a quantidade de lodo inoculado (0,5, 1 ou 1,5L) não alterou expressivamente a porcentagem de degradação de DQO. Sem lodo de inóculo se chegou a no máximo 12% com 96 horas de aeração.

O pH medido foi praticamente constante em 7,5 em todos os testes. A concentração de sólidos totais do lodo aeróbio usado foi de 25 g/L.

Os testes aeróbios apresentaram-se pouco vantajosos na redução de DQO. Pois esperava-se maiores remoções, comuns nesse tipo de sistema. Kargi e Uygur, (1996) usaram um reator tipo coluna de percolação aerada, com salinidade de 1 a 5% de NaCl, com cultura composta e a eficiência de remoção de DQO foi de 75%.

Normalmente o processo aeróbio é mais rápido e biologicamente preferencial em relação ao processo anaeróbio, porque requer menor energia de ativação e produz mais energia por reação. Em particular o teste biótico (lodo ativado) apresentou eficiência de remoção de DQO inferior a 50%. O teste aeróbio sem inoculação inicial removeu DQO na ordem de 25%. Esse melhor resultado do reator com o inóculo aeróbio se deveu provavelmente à maior quantidade de colônias ativas livres aptas à degradação em meio com excesso de oxidante livre (O_2). Deve-se considerar que caso o lodo aeróbio fosse submetido a adaptações sucessivas os resultados seriam melhores.

A título de comparação, Freire (1999) utilizou tratamento aeróbio da AP diluída em esgoto doméstico na proporção de 10%, com reator em batelada seqüencial, obtendo eficiência de remoção de DQO de 52%. Porém, esses dados não podem ser comparados com os da presente pesquisa, onde o lodo aeróbio não foi adaptado e a aeração era excessiva e sem controle (feita por bombas de aquário).

5.4- Acompanhamento da biomassa e mudança da morfologia na manta de lodo contida nos reatores tipo UASB ao longo das fases operacionais

Como os organismos presentes no lodo estão relacionados com o desempenho do reator e sofrem influência da hidrodinâmica do sistema, do tipo de substrato utilizado, de fatores ambientais e condições operacionais, foram realizadas análises sobre as características morfológicas das células, presentes no lodo dos reatores, visando observar as mudanças na diversidade da morfologia microbiana dos reatores expostos a concentrações crescentes de água de produção de petróleo e consequentemente de salinidade.

Após 632 dias de operação os reatores UASB apresentaram baixo crescimento celular e durante o período de funcionamento do sistema não foi necessário fazer o descarte de lodo. A altura da manta de lodo foi acompanhada por meio da parede de acrílico do reator, e se manteve no nível em torno de 30 cm no Reator A e 31 cm no Reator B. Observou-se que na manta de lodo (sedimentado) dos reatores a predominância de flocos densos com formato irregular, de coloração preta em todas as regiões da manta de lodo.

A avaliação do lodo biológico acumulado foi realizada com base na razão entre as concentrações de sólidos totais voláteis e sólidos totais das amostras de lodo (STV/ST).

As Tabelas 5.27 e 5.28 contêm os resultados da caracterização dos sólidos na manta de lodo do Reator A e B, respectivamente, nas fases operacionais onde o esgoto sintético era usado como co-substrato (até a Fase VI).

Tabela 5.27: Caracterização dos sólidos na manta de lodo do Reator A (final da fase).

FASE	Sólidos Totais (g/L)	Sólidos Totais Fixos (g/L)	Sólidos Totais Voláteis (g/L)	Razão de STV/ST	% de Sólidos Totais Voláteis	% de Cinzas	Sódio Afluente Médio (mg Na^+/L)
INÓCULO	89,1	13,4	75,7	0,849	84,9	15,1	-
FASE I	172,0	37,7	134,3	0,781	78,1	21,9	340
FASE II	110,2	26,7	83,5	0,758	75,8	24,2	4.373
FASE III	83,3	24,5	58,8	0,706	70,6	29,4	5.682
FASE IV (K^+)	111,6	26,0	85,7	0,767	76,7	23,3	5.587
FASE V (K^+)	137,0	41,7	95,4	0,696	69,6	30,4	4.829
FASE VI (K^+)	122,9	40,0	82,9	0,675	67,5	32,5	6.800

Tabela 5.28: Caracterização dos sólidos na manta de lodo do Reator B (final da fase).

FASE	Sólidos Totais (g/L)	Sólidos Totais Fixos (g/L)	Sólidos Totais Voláteis (g/L)	Razão de STV/ST	% de Sólidos Totais Voláteis	% de Cinzas	Sódio Afluente Médio (mg Na^+/L)
INÓCULO	89,1	13,4	75,7	0,849	84,9	15,1	-
FASE I	130,6	29,6	100,9	0,773	77,3	22,7	340
FASE II	109,3	26,7	82,7	0,756	75,6	24,4	4.373
FASE III	85,5	27,4	58,1	0,679	67,9	32,1	5.682
FASE IV	86,6	29,2	57,4	0,662	66,2	33,8	5.737
FASE V	125,6	51,7	74,0	0,589	58,9	41,1	4.750
FASE VI	118,3	39,2	79,1	0,669	66,9	33,1	6.957

No lodo de inóculo a porcentagem de sólidos totais voláteis foi de 84,9%, representando o percentual da massa de microrganismos inoculados nos reatores. Mas, no final da primeira Fase é vista uma diminuição da biomassa em ambos reatores (78%). Tal fato pode ter sido devido ao lodo granular industrial, usado na mistura do

inóculo. Esse lodo estava armazenado em geladeira há alguns anos e pode não ter se adaptado as novas condições.

Ao final da Fase VI a porcentagem orgânica na amostra do lodo retirada do Reator A foi de 67,5% e na do Reator B foi de 66,9%, mostrando que praticamente não houve diferença de quantidade de biomassa entre os reatores, mesmo com a adição do potássio a partir da Fase IV no Reator A.

Apesar do grande aumento da concentração de sódio da Fase I para a Fase II (340 mg/L para 4.373 mg/L) o impacto sobre a quantidade de biomassa não foi expressivo. A relação STV/ST no Reator A passou de 0,781 para 0,758 e no Reator B de 0,773 para 0,756.

Houve redução da razão STV/ST da Fase I para a Fase VI, em ambos reatores. Essa diminuição também foi vista nos dois reatores, da Fase IV para V, onde houve redução da DQO do ES, com manutenção da faixa de salinidade, demonstrando a dependência do co-susbtrato de fácil degradação (ES) para o funcionamento do sistema, pois a eficiência de remoção de DQO também caiu.

Em cada um dos reatores ocorreu um leve aumento de biomassa em situações distintas. No Reator A, da Fase III para IV o percentual aumentou de 70,6% para 76,7%, mostrando que durante esse período a suplementação de potássio favoreceu o crescimento da biomassa. Também ocorreu aumento de eficiência de remoção (63%). Porém, nas duas fases seguintes o percentual volta a cair. Analisando o Reator B, percebe-se uma melhora do percentual orgânico da Fase V para VI.

O aumento do teor de cinzas é considerado um indicador do grau de mineralização do lodo. Quando há altas concentrações de cálcio no afluente, o indicador pode servir para estimar a acumulação de precipitados inorgânicos, como o carbonato de cálcio, na biomassa (FIELD, 1988). Os altos teores de cálcio afluente aos reatores (Tabela 5.12), juntamente com o aumento das cinzas de 15,1% no inóculo para aproximadamente 33% na Fase VI nos reatores UASB (Tabelas 5.27 e 5.28) indicam essa precipitação. Aliado a salinidade outros autores reportam a precipitação do cálcio (JEISON, et al., 2008).

Analisando a razão STV/ST em conjunto com as Tabelas 5.27 e 5.28, que expressam as morfologias encontradas, percebe-se que no Reator A, da Fase III para V, as morfologias semelhantes a cocos e bacilos ovalados diminuem, enquanto ocorre o aumento dos bacilos delgados e que essa freqüência se mantém da Fase V para VI. Já no Reator B da Fase III para V ocorre a diminuição da freqüência de todas as morfologias,

com posterior recuperação na Fase IV. As morfologias presentes nas amostras retiradas dos reatores foram vistas microscopicamente utilizando o corante DAPI.

As Tabelas 5.29 e 5.30 mostram um resumo das semelhanças com as morfologias dos microrganismos presentes nos reatores ao longo das fases.

Tabela 5.29: Semelhanças com as morfologias dos microrganismos presentes no Reator A ao longo das fases.

DOMÍNIO	SEMELHANÇA DAS PRINCIPAIS MORFOLOGIAS	Inóculo	Fase I	Fase II	Fase III	Fase V (K^+)	Fase VI (K^+)	Fase IX (K^+)
Domínio *Archaea*	*Methanosaetha sp.*	-	-	+++	+++	+++	+++	++
Domínio *Bacteria*	Filamentos	+++	++	+++	+++	+++	+++	++
	Cocos	++	+++	+++	+++	++	++	+++
	Coco-bacilo	++	+++	++	++	++	++	+++
	Bacilo ovalado	+	+++	++	+++	++	++	++
	Bacilo delgado	+++	++	+++	++	+++	+++	+++
	Bacilo alongado	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++

(++++) Morfologias Predominantes; (+++) Morfologias freqüentes; (++) Morfologias pouco freqüentes; (+) Morfologias raras; (-) Morfologias que não foram encontradas.

Tabela 5.30: Semelhanças com as morfologias dos microrganismos presentes no Reator B ao longo das fases.

DOMÍNIO	SEMELHANÇA DAS PRINCIPAIS MORFOLOGIAS	Inóculo	Fase I	Fase II	Fase III	Fase V	Fase VI	Fase IX
Domínio *Archaea*	*Methanosaetha sp.*	-	-	+	++	++	+	-
Domínio *Bacteria*	Filamentos	+++	++	+	++	++	++	-
	Cocos	++	+	+++	++	+	+++	++
	Coco-bacilo	++	+++	+++	++	+	++	+
	Bacilo ovalado	+	+++	++	++	+	++	+
	Bacilo delgado	+++	++	++	+++	++	+++	+++
	Bacilo alongado	+++	+++	++	+++	++	+++	+++

(++++) Morfologias Predominantes; (+++) Morfologias freqüentes; (++) Morfologias pouco freqüentes; (+) Morfologias raras; (-) Morfologias que não foram encontradas.

A análise da diversidade morfológica teve caráter exploratório, pois as morfologias foram observadas em linhas gerais e comparadas com aquelas comuns em sistemas anaeróbios e/ou que operavam com efluentes salinos.

A caracterização morfológica do lodo de inóculo, oriundo da mistura de lodo granular de indústria de processamento de milho com lodo floculento de estação de tratamento de esgoto doméstico (ETE Mangueira), na proporção de 1 para 2 (m/m),

mostrou o predomínio de bacilos com extremidades arredondadas, bacilos delgados e alongados, cocos-bacilo e cocos, além de arquéias metanogênicas semelhantes à *Methanosaeta sp*. às quais se atribuiu a estabilidade do grânulo nas fases iniciais. O grânulo apresentou-se compacto e com estrutura de difícil desprendimento até o fim da Fase II. Em menor quantidade, foi observada também a presença de bacilos ovalados. Partindo-se do mesmo inóculo, que foi divido para ambos os reatores, na Fase I foi constatado um distanciamento das comunidades presentes.

Ao longo das fases, a biomassa dos dois reatores, apresentaram redução da variedade da morfologia semelhantes a *Methanosaeta sp*. As variadas morfologias de bacilos continuaram presentes. As morfologias dos reatores mantiveram-se relativamente semelhantes às do inóculo, não apresentando grandes diferenças de microrganismos, segundo a metodologia utilizada. Apenas as estruturas ficaram mais compridas nas cinco primeiras fases e depois foram ficando mais escassas. As morfologias semelhantes à arquéias do gênero *Methanosaeta sp.* foram mais frequentes no Reator A (maior concentração de potássio). Essa morfologia, assim como os filamentos, foi diminuindo ao longo da operação. Essa diminuição foi também menos expressiva no Reator A. Então, é provável que o potássio tenha favorecido a manutenção dessas morfologias.

Segundo Díaz et al. (2006), tanto com reatores em escala plena, quanto em escala laboratorial, frequentemente observam-se grânulos com diferentes tamanhos (de centenas de micrômetros a poucos milímetros) e com diferentes cores. Em seus estudos de caracterização de grânulos de um reator UASB tratando efluente de cervejaria, diferentes técnicas de biologia molecular (FISH, DGGE e clonagem), além de microscopia eletrônica, foram combinadas para elucidar a relação de estrutura-função nos diferentes grânulos. Seus resultados mostraram grânulos com diferentes tamanhos e taxas de sedimentação, com cores que variavam de preto, cinza e marrom. Na visualização por microscopia eletrônica, verificou-se que os grânulos pretos eram pequenos e compactos.

Nesse estudo conduzido por Diaz et al. (2006), a localização de bactérias e arquéias nos grânulos anaeróbios foi feita por meio de FISH. Nos grânulos pretos, as bactérias apareciam na parte externa, enquanto que as arquéias formavam densos agrupamentos dentro dos grânulos, entretanto, com baixa atividade. Bactérias Gram-negativas eram as bactérias mais abundantes em grânulos pretos e cinzas, porém, ausentes em grânulos marrons. Com respeito ao domínio *Archaea*, em todos os três

tipos de grânulos, o gênero *Methanosaeta sp.* foi predominante (75 a 96% do total de células de arquéias). Segundo os autores, os resultados são indicações de que os diferentes tipos de grânulos refletiriam diferentes passos no desenvolvimento do lodo e na degradação metanogênica.

Grânulos pretos seriam grânulos jovens e que bactérias Gram-negativas (principalmente proteobactéria) e arquéias dos gêneros *Methanosarcina sp.* e *Methanospirillum sp.* seriam os microrganismos pioneiros. Como conseqüência dos problemas de difusão e da perda de nutrientes, o crescimento ocorreria principalmente na periferia do grânulo, formando multicamadas. Bactérias metabolicamente ativas colonizariam a superfície dos grânulos, enquanto que compostos no meio seriam ativamente degradados e arquéias metanogênicas desenvolveriam-se no interior dos grânulos, formando grandes colônias. É provável que relações sintróficas sejam estabelecidas entre bactérias acetogênicas redutoras de prótons e arquéias consumidoras de hidrogênio. Os grânulos cinza têm uma forma esférica ou elipsóide e correspondem à maioria dos grânulos presentes no lodo. Os microrganismos predominantes nestes grânulos foram as bactérias Gram-positivas e as arquéias do gênero *Methanosaeta sp.*. Os grânulos marrons seriam os grânulos velhos, relativamente grandes, que possuem uma estrutura leve e fofa, cheia de áreas e canais entre as camadas e no interior do grânulo, que teriam surgido devido a problemas de difusão. Hibridização com sondas fluorescentes mostrou que a parte interna de grânulos marrons e cinzas exibe pouca ou nenhuma atividade microbiana. Somente os grânulos pretos parecem abrigar microrganismos ativos no seu interior (DÍAZ et al., 2006).

Esses ditos grânulos “jovens” foram vistos até o final dos experimentos, mas com diminuição de freqüência. Também se constatou a desfragmentação desses grânulos ao longo das fases. Na Fase IV quase nenhum grânulo foi observado. Como o lodo nos reatores permaneceu preto certamente teriam microrganismos ativos dentro dos grânulos restantes.

Dentre as cinco ordens, somente a Methanosarcinales inclui os únicos dois gêneros conhecidos de arquéias acetoclásticas: *Methanosaeta sp.* e *Methanosarcina sp.*. O primeiro, único da família Methanosaetaceae, é constituído por espécies que formam filamentos longos e finos, importantes na formação da trama microbiana presente nos grânulos de reatores anaeróbios. É especialista, tendo uma alta afinidade pelo acetato, mas uma taxa de crescimento específico relativamente baixa (tempo de duplicação celular de 3,5 a 9 dias) (JETTEN et al., 1992).

Filamentos de *Methanosaeta sp.* são constituídos por um conjunto de várias células enfileiradas, onde cada uma é circuncidada por uma bainha nas extremidades. Estes filamentos foram encontrados formando uma trama dentro dos grânulos. A partir da Fase V com o aparente rompimento dos grânulos, foram observados fragmentos destes filamentos, de tamanhos variados (FIG. 5.20 a 5.24).

Comparativamente, ao final dos seus experimentos os pesquisadores Lefebvre et al. (2007) encontraram duas espécies de arquéias que foram identificadas (*Methanosaeta sp.* e *M. beijingense*) em todos os perfis dos reatores anaeróbios e em qualquer concentração de sal. Ressalta-se que no inóculo essas espécies não foram encontradas. O aumento das concentrações de NaCl não teve um grande impacto sobre a composição da biomassa, mas apenas sobre as taxas de biodegradação apresentadas pelos microrganismos.

Na Tabela 5.31, são apresentados alguns grupos de arquéias encontrados em sistemas de tratamento anaeróbio, citados na literatura, bem como a morfologia típica de cada grupo.

Tabela 5.31: Principais grupos de arquéias metanogênicas encontrados em sistemas de tratamento anaeróbio.

Ordem	Família	Gênero	Morfologia (*)
Methanosarcinales	Methanosaetaceae	*Methanosaeta*	Filamentos longos e finos
	Methanosarcinaceae	*Methanosarcina*	Agregados de cocos irregulares
		Methanomethylovorans	Dois ou quatro cocos irregulares, formando agregados
Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	*Methanobacterium*	Filamentos curtos ou longos
		Methanobrevibacter	Filamentos curtos
		Methanosphaera	Cocos
Methanomicrobiales	Methanomicrobiaceae	*Methanomicrobium*	Filamentos curtos
		Methanogenium	Cocos irregulares
		Methanoplanus	Células formam placas finas
		Methanoculleus	Cocos irregulares
	Methanospirillaceae	*Methanospirillum*	Espirilos
	Methanocorpusculaceae	*Methanocorpusculum*	Cocos irregulares

Fonte: Whitman et al. (1992) e Madigan et al. (2003).

Com relação as morfologias encontradas em ambientes salinos, Olmo (2005) mesmo trabalhando com um efluente sintético, encontrou tipos semelhantes de morfologias, numa concentração de Na^+ entre 2.100 mg/L e 6.500 mg/L. Destacando-se a morfologia similar a *Methanosaeta sp.*, que, assim como nesse trabalho, sempre esteve presente. A morfologia similar a *Methanosarcina sp*. era encontrada desde o

inóculo no trabalho de Olmo (2005) e permaneceu nos reatores. Na pesquisa realizada essa morfologia não foi vista nem no inóculo, nem em nenhuma condição operacional dos reatores.

Devido à morfologia variada houve dificuldade de visualização de células individuais, especialmente aquelas relacionadas ao gênero *Methanosaeta sp.*, as arquéias foram classificadas em morfotipos, no caso apenas *Methanosaeta sp.*.

Como a análise estatística mostrou que os reatores puderam ser considerados como replicas, no tocante a eficiência de remoção de DQO, a única diferença operacional entre os dois reatores na Fase V era o uso do potássio. No Reator A o crescimento e permanência dos filamentos no sistema foi percebido a partir da Fase II.

Resultados encontrados por Fernández et al. (2000) e Hashsham et al. (2000), que mostraram que nem sempre alta diversidade de microrganismos significa maior estabilidade do sistema diante de condições perturbadoras ou desequilíbrios no meio. O aparato experimental de ambos os estudos constituía-se de oito reatores anaeróbios mesofílicos, alimentados com solução de glicose enriquecida e tamponada. Quatro reatores foram submetidos ao suprimento de glicose durante 200 dias e os outros quatro, por 60 dias. Análise microbiana feita por microscopia de contraste de fase e biologia molecular indicou que os reatores operados por mais tempo continham uma elevada abundância de microrganismos, porém com baixa diversidade, com alta quantidade de espiroquetas, denominado de *high-spirochete* (HS), enquanto que os reatores operados em menos tempo (mais jovem) continham uma biomassa mais diversa, porém menos abundante, com menor quantidade de espiroquetas, chamados *low-spirochete* (LS).

Apesar desta significativa diferença em termos de abundância e diversidade microbiana, ambos os reatores apresentaram a mesma eficiência de remoção, indicando que a estabilidade funcional pode não depender de uma estabilidade na estrutura microbiana.

Hori et al. (2006) chegam a inferir que a comunidade de arquéias seria mais influenciada pela concentração de AGV e a de bactérias, pela variação de pH e, provavelmente, pelo tipo de efluente a ser tratado. Como não ocorreram variações de pH entre os reatores, possivelmente as mesmas morfologias corresponderiam as mesmas espécies de bactérias.

Fernandez et al. (2000) e Hashsham et al. (2000) concluíram que as funções ecológicas de comunidades microbianas similares são replicáveis dentro de sistemas complexos. Entretanto, a estabilidade de um sistema ecológico pode estar mais ligada a

uma comunidade mais flexível quanto à sua capacidade de deslocar, de maneira eficiente, vias metabólicas alternativas do que propriamente a uma maior diversidade de microrganismos. Dependendo das populações microbianas envolvidas, a presença de um grupo menor, mas importante, pode definir essas vias metabólicas. Além disso, redução na diversidade não significou, necessariamente, redução na estabilidade do sistema; em outras palavras, estabilidade funcional não implicou em estabilidade na estrutura da comunidade microbiana envolvida.

Os reatores UASB parecem favorecer a presença do gênero *Methanosaeta sp.*, o que pode refletir sua grande importância na estabilização dos grânulos (LECLERC et al., 2004).

Em reatores anaeróbios bem operados, com baixa concentração de ácidos graxos e tratando lodo ou esgoto sanitário, em escala plena, predominam arquéias acetoclásticas do gênero *Methanosaeta sp.* (YU et al. 2005; ZHANG et al. 2005).

Olmo (2005) concluiu que as arquéias foram claramente afetadas pela concentração de sódio ao longo de todo experimento. A degradação de matéria orgânica pelo reator UASB foi comprometida com concentrações de Na^+ superiores a 3.600 mg/L. Assim como no trabalho de Olmo (2005), o aumento da concentração de cloreto de sódio possivelmente provocou a redução da população de arquéias, pois a eficiência de remoção de matéria orgânica também foi caindo.

Nas pesquisas de Vieira, et al. (2003) e Vieira et al. (2004), consórcios microbianos isolados da própria AP tinham predominância de bactérias redutoras de sulfato, provavelmente também presentes nos reatores.

Leitão et al. (2006) observaram que a inibição da metanogênese, acarretada pelo aumento da carga aplicada (aumento da vazão), foi relacionada à uma mudança na comunidade microbiana do grânulo, de uma biomassa predominantemente metanogênica para uma biomassa não-metanogênica constituída principalmente por longos filamentos.

Jeison, et al. (2008) usando três reatores UASB operados em diferentes concentrações de salinidade observaram altos níveis de inibição da atividade quando a concentração de sal ficou acima de 7 g/L de sódio. Embora tenha ocorrido a adaptação do lodo ou a seleção de espécies resistentes. A condição de alta salinidade resultou na redução da resistência do grânulo e diminuição do seu tamanho e distribuição (apenas 152 dias de operação). Esses experimentos também mostraram que a alta concentração

de sódio deslocou o cálcio para o lodo. Lettinga, et al. (1987) destacam que concentrações de cálcio de 400 mg/L já podem causar precipitações.

Na presente pesquisa os reatores UASB, operaram com longo período de exposição à salinidade (632 dias) e como as concentrações médias de cálcio foram bem elevadas (concentração de cálcio afluente de 597 até 2.498 mg/L), os grânulos no lodo provavelmente perderam resistência e funcionalidade, sendo também por este motivo que não houve melhoria da eficiência da remoção de DQO, mesmo depois que a salinidade foi diminuída (Fase VII), o que juntamente com outros fatores levou os reatores praticamente ao colapso (eficiências médias finais de remoção de DQO de 7,3 e 8,2% para os reatores A e B, na Fase IX).

Alia-se a isso o fato do teor de cinzas também ter aumentado nos dois reatores (Tabelas 5.27 e 5.28), sendo este outro indicador da mineralização do lodo (FIELD, 1988). Ismail, et al (2008) também observaram queda acentuada na resistência do lodo com o aumento da concentração de sódio.

As FIG. 5.18 e 5.19 correspondem às amostras da Fase IV dos Reatores A e B e foram feitas usando a metodologia para visualização em microscópio de contraste de fase. Como por esse método foram vistos muitos artefatos na amostra feita a fresco, optou-se por continuar a verificar a morfologia da manta de lodo com o auxilio de coloração (DAPI).

Essas amostras foram escolhidas, para ilustrarem a maior quantidade de filamentos presentes no Reator A.

Na Fase IV a melhor eficiência de remoção de DQO, no Reator A (63%) foi relacionada à maior presença de filamentos na manta de lodo. Apesar da eficiência não ter sido significativamente diferente daquela obtida para o Reator B (57,3%), que menor densidade e diversidade de morfologias.

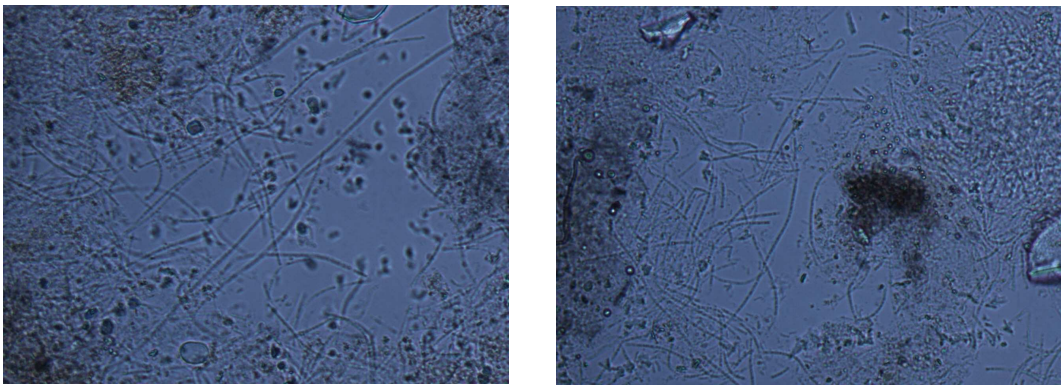


Figura 5.18: Amostras do Reator A na Fase IV, visualizadas em microscópio de contraste de fase.

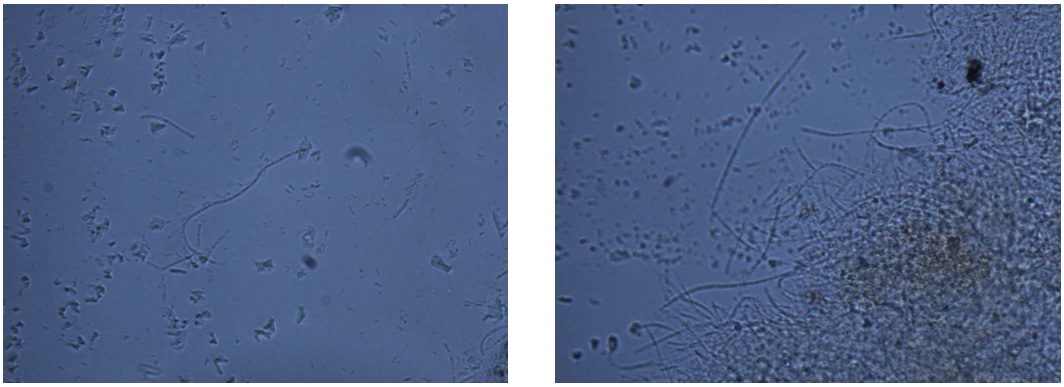


Figura 5.19: Amostras do Reator B na Fase IV, visualizadas em microscópio de contraste de fase.

Em sequência, as FIG. 5.20, 5.21, 5.22, 5.23 e 5.24 ilustram os dados da Tabelas 5.28 e 5.29, com as imagens feitas, com auxílio do corante DAPPI, das amostras do lodo retirado no final de cada fase operacional. Com o uso dessa técnica ficou evidente a facilidade em se distinguir as diferentes morfologias presentes.

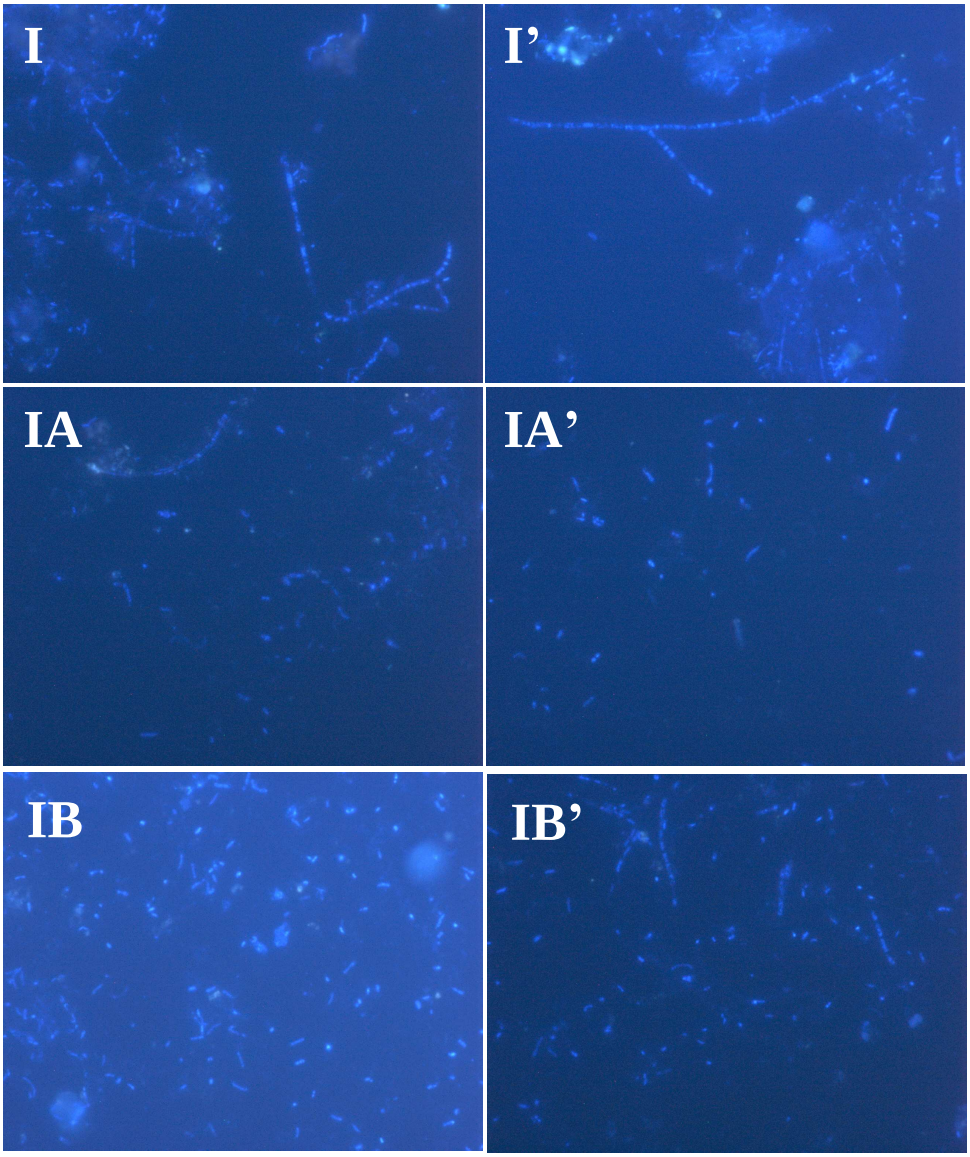


Figura 5.20: Amostras do Reator A e B, visualizadas em microscópio de epifluorescência (I e I’: Inóculo; IA e IA’: Fase I no Reator A; IB E IB’: Fase I no Reator B).

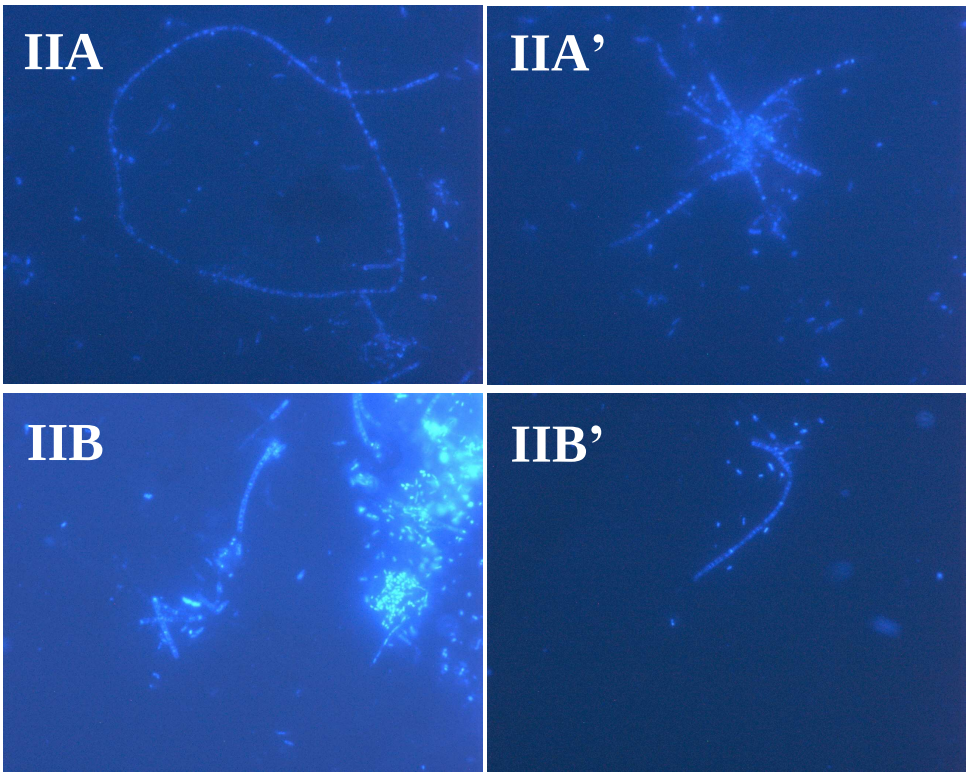


Figura 5.21: Amostras do Reator A e B, visualizadas em microscópio de epifluorescência (Fase II-A; Fase II-B; Fase III-A; Fase III-B).

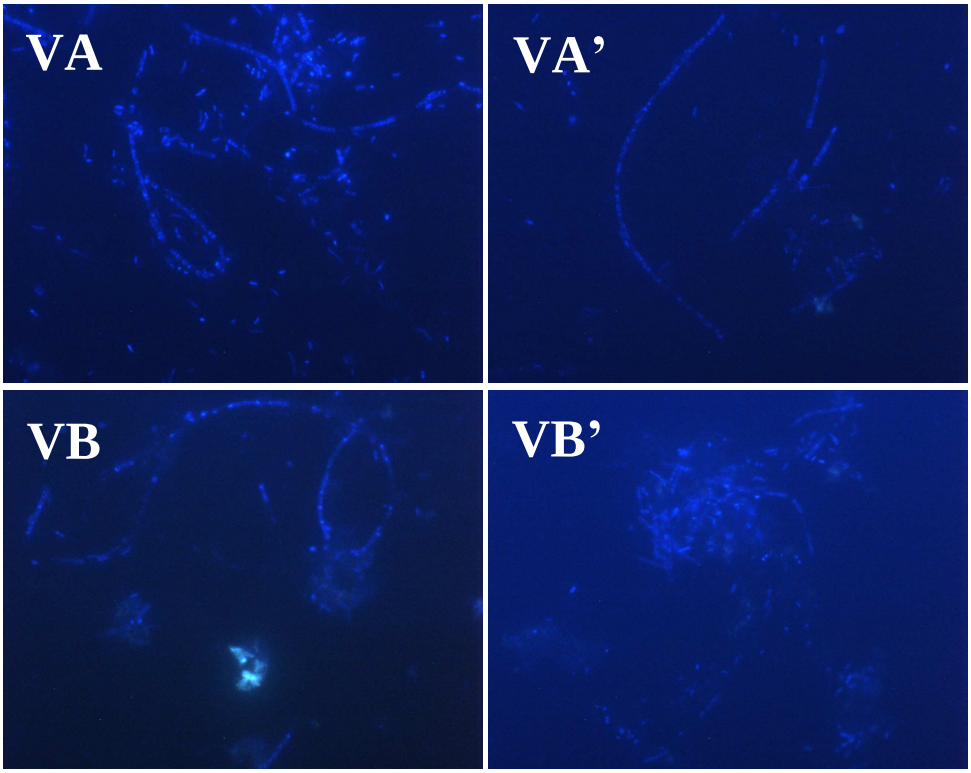


Figura 5.22: Amostras do Reator A e B, visualizadas em microscópio de epifluorescência (Fase V-A; Fase V-B).

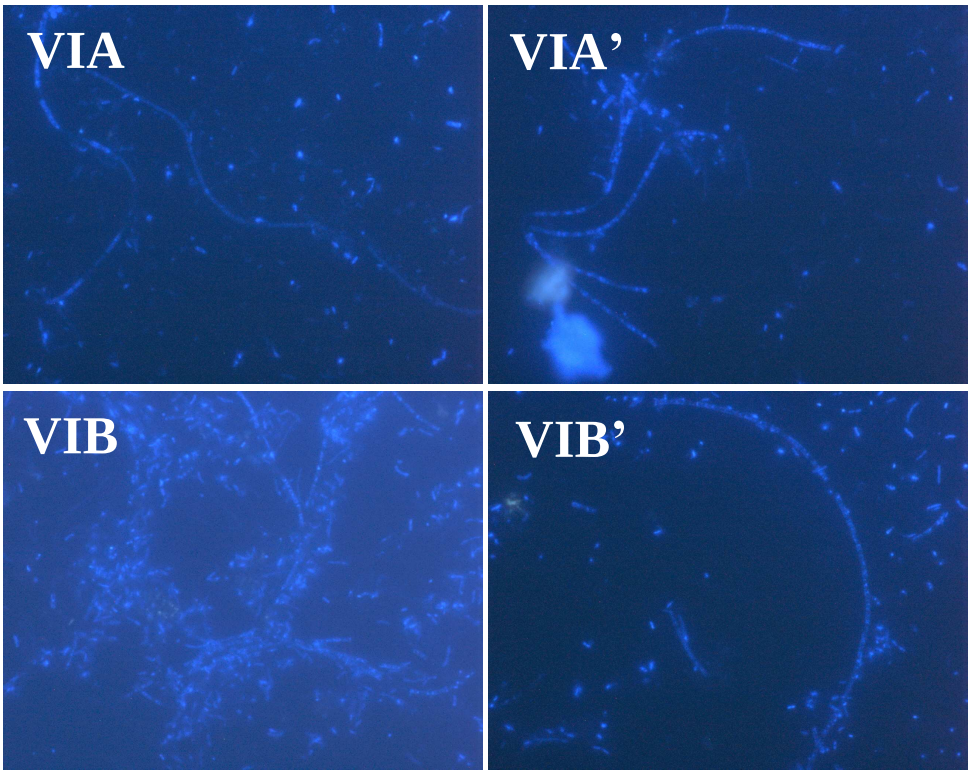


Figura 5.23: Amostras do Reator A e B, visualizadas em microscópio de epifluorescência (Fase VI-A; Fase VI-B).

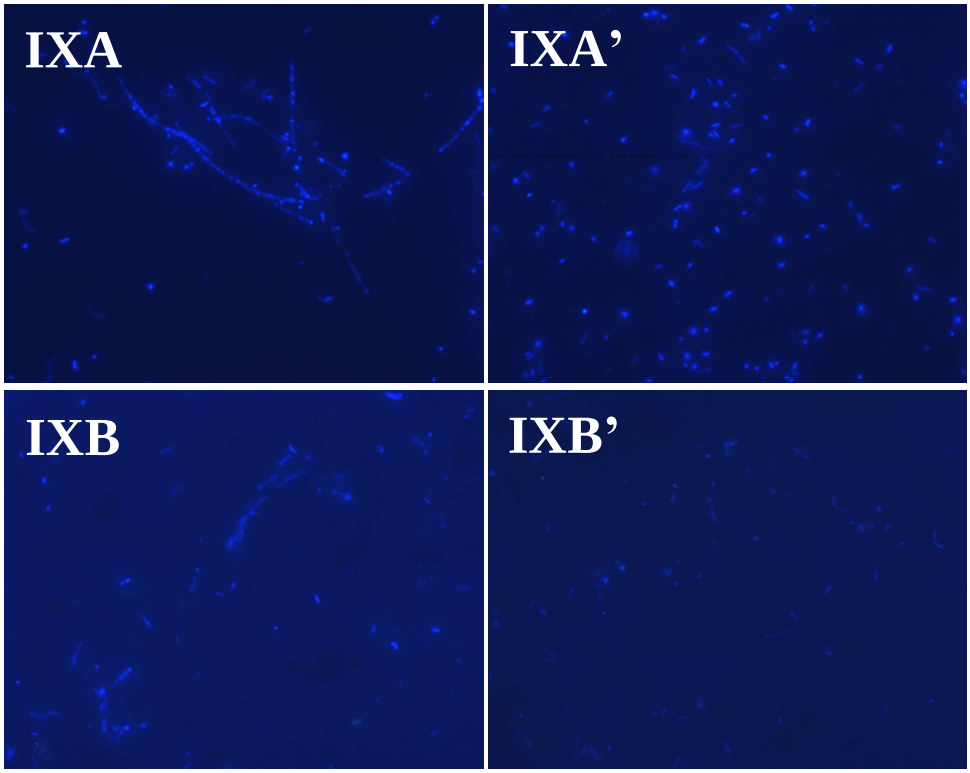


Figura 5.24: Amostras do Reator A e B, visualizadas em microscópio de epifluorescência (Fase IX-A; Fase IX-B).

6- CONCLUSÕES

A principal conclusão com relação ao tratamento anaeróbio da água de produção de petróleo (AP) em reator tipo UASB, nas condições estudadas, foi que não houve melhoria significativa, pelo teste de Tukey à 5%, da remoção de DQO com a adição do íon potássio como antagonizante ao sódio (Na^+) na diminuição do efeito inibitório da salinidade da AP sobre as bactérias anaeróbias.

A redução da carga orgânica também não favoreceu a degradação de DQO, assim como a mudança de co-substrato e a adição complementar de nutrientes não foram benéficas na melhoria do desempenho do sistema. A mudança de co-substrato de esgoto sintético para metanol ocasionou aumento da eficiência de remoção de DQO, enquanto a adição conjunta de metanol (co-substrato) e de nutrientes não favoreceu a remoção de matéria orgânica. Já a diminuição (Reator A) ou retirada do co-substrato (Reator B), acarretou diminuição da eficiência, indicando dependência da biomassa ao co-substrato. Também foi constatado que provavelmente a parcela de DQO correspondente à AP não foi degradada por via anaeróbia. Até a Fase V a DQO efluente dos reatores era superior à contribuição da DQO da AP.

Os resultados dos testes aeróbios, utilizando água de produção bruta e após o tratamento anaeróbio, com esgoto sintético como co-substrato mostraram que a remoção de DQO ficou em torno de 50%. Já quando metanol foi o co-substrato, para a mesma remoção o tempo de degradação foi menor.

As morfologias predominantes nos dois reatores foram do tipo bacilos com extremidades arredondadas, bacilos delgados e alongados, cocos-bacilo e cocos, além de semelhantes à *Methanosaeta sp*. às quais se atribuiu a estabilidade do grânulo nas fases iniciais. A adição de potássio favoreceu o aumento da concentração de todos os microrganismos, preservando a diversidade morfológica no reator durante todas as fases operacionais. Já o reator sem suplementação, os filamentos e morfologias semelhantes às arquéias metanogênicas gradativamente não puderam ser detectadas. Esse fato, provavelmente ocorreu devido às mudanças das condições operacionais, tais como tipo de co-substrato, adição complementar de nutrientes e a diminuição de carga orgânica, que contribuíram para a mineralização do lodo nas últimas fases de operação com o consequente colapso dos reatores.

7- SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Tendo como base os resultados e as conclusões obtidas ao longo do desenvolvimento da parte experimental, recomenda-se continuar as pesquisas, objetivando investigar questões que não foram foco do presente estudo, ou que ainda precisam ser melhor analisadas, tais como:

- No tocante a caracterização físico-química da AP seria necessário um maior detalhamento dos hidrocarbonetos presentes (HPAs e Hidrocarbonetos Totais) com o uso de métodos mais indicados como, por exemplo, cromatografia gasosa de espectrometria de massa;
- Realizar a determinação de metais pesados por métodos indicados para a matriz (ambiental, salina e com baixas concentrações), como a fluorescência de raios X por reflexão total com excitação por radiação síncrotron (SRTXRF);
- Realizar a determinação de cálcio por difração de raios X, por exemplo. Com a finalidade de identificar se o mesmo se acumula no lodo de reatores biológicos operados por longos períodos, com altas concentrações afluentes de sódio e cálcio.
- Testar métodos, com as necessárias adaptações, para realizar a análise do parâmetro de DBO, a fim de calcular a relação DQO/DBO da água de produção.
- Para a viabilidade do tratamento biológico anaeróbio em reator UASB, indica-se realizar estudos sobre a possibilidade de introduzir outras fontes de carbono, como vinhaça (LEFEBVRE et al., 2007) para verificar a eficiência de degradação de compostos tóxicos presentes na AP; além de avaliar melhor o metanol, já que esse apresentou bom resultados nos testes de biodegradação anaeróbia em batelada;
- Testar outras configurações de reatores e TDHs (Reator Compartimentado: JI, et al., 2009) a fim de propor uma configuração de reator para uso em escala real, assim como utilizar diferentes cátions, metais e vitaminas (WOOLARD e IRVINE, 1995) em concentrações variadas. Também sugere-se o estudo com reatores termofílicos (escala de bancada), visto que, na saída dos tratadores a água de produção tem uma temperatura em torno de 50 °C, fazendo-se necessário primeiro o seu resfriamento, em bacia de equalização, para o uso em meio mesofílico;
- Por fim, o uso de técnicas de microscopia mais desenvolvidas (microscopia ótica de varredura) e de biologia molecular, tais como hibridização *in situ* fluorescente (FISH) e eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE), poderia avançar no conhecimento do comportamento da AP, em sistemas de tratamento anaeróbio, mostrando com exatidão as comunidades envolvidas no processo de biodegradação.

REFERÊNCIAS

1. ALKHA, E. A.; THIEM, L. T. In-situ adaptation of activated sludge by shock loading to enhance treatment of high ammonia content petrochemical wastewater. **Water Science and Technology**. v. 20, n. 10, 1988.
2. **ANP** – Agência Nacional de Petróleo. Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis 2008. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/conheca/anuario_2008.asp>. Acesso em 10 de junho de 2009.
3. AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L.; FORESTI, E.; SANTOS, M. L. F.; MONTEGGIA, L. O. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, n. 2 – abr/jun 2007. p. 192-201.
4. ARAÚJO-CASTRO, C. M. V.; SOUZA-SANTOS, L. P.; TORREIRO A. G.; GARCIA K. S. Sensitivity of the marine benthic copepod Tisbe biminiensis (copepoda, harpacticoida) to potassium dichromate and sediment particle size. **Brazilian journal of oceanography**, v.57, n.1, p.33-41. 2009.
5. ATLAS, R. M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. **Microbial Reviews**. v. 45, n.1, p.180-209, march 1981.
6. BARBIERI, E. Emprego de *Poecilia Vivipara* (cyprinodontiformes) e *Artemia Salina* (crustacea) para determinar a toxicidade aguda da água de produção de petróleo em Sergipe, Brasil. **Biologia Geral e Experimental**. v.5. n.1. p. 26-29, 2004.
7. BARBIERI, S. M. **Biodegradação de compostos aromáticos**. In: Microbiologia ambiental. Jaguarúna, SP: EMBRAPA, 1997. cap. 10, p. 211-242.
8. BARBOSA, D. C. Identificação de bactérias halofílica/halotolerantes com potencial no uso do tratamento de água de produção. **Dissertação** (Mestrado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2005. 99p.
9. BARRANCO, R. M.; ALONSO-SALCESA, A.; BAKKALIA, L. A.; BERRUETA, A. B.; GALLOA, F.; VICENTE, A. M. Solid-phase clean-up in the liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils. **J. Chromatogr. A.** n.988, p.33–40. 2003.
10. BARROS, T. T. Degradação biológica de água de produção de petróleo utilizando reatores em bateladas seqüenciais. Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. **Dissertação** (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento). 2009. 134p.
11. BASHARAT, H. B.; MARTIN, A. Effect of using potassium as an antagonist for the reduction of sodium toxicity in laboratory scale anaerobic reactors. **EJEAFChe**. 2004[a].
12. BLACK, J. G. **Microbiology principles and explorations**. 4 ed, Prentice Hall Publishers, New York.
13. BASHARAT, H. B.; MARTIN, A. Reduction of sodium toxicity by using calcium in anaerobic processes. **EJEAFChe**. 2004[b].
14. BENTO, D. M. Análise Química da Degradação dos Hidrocarbonetos de Óleo Diesel no Estuário da Lagoa dos Patos. Rio Grande/RS. Fundação Universidade Federal do Rio Grande. Departamento de Geociências Laboratório de Oceanografia Geológica. **Dissertação** (Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica). 2005. 112p.
15. BRENDEHAUG, J. S.; JOHNSEN, K. H.; BRYME, A.L.; GJOSE, T. H. Toxicity testing and chemical characterization of produced water - a preliminary study. In: **Produced Water. Technological Environmental Issues and Solutions** (Ray, J.P. & F.R. Engelhardt Eds.) New York. p. 248-256.1992.
16. BURTON JR., B. A.; GREENBERG, M. S.; ROWLAND, C.; IRVINE, C. A.; LAVOIE, D. R.; BROOKER, J. A.; MOORE, L.; RAYMER, D. F. N.; Mc WILLIAN, R. A. In situ exposures using caged organisms: a multi-compartiment approach to detect aquatic toxicity and bioaccumulation. **Environmental Pollution**. n.134, p.133-144. 2005.

17. CAMPOS, J. C.; BORGES, R. M.; OLIVEIRA FILHO, A. M.; NOBREGA, R.; SANT'ANA Jr., G. L. Oilfield wastewater treatment by combined microfiltration and biological processes. **Water Research**. v. 36, p. 95-104, 2002.
18. CASTILLO, L.; EL KHORASSANI, H.; TREBUCHON, P.; THOMAS, O. UV treatability test for chemical and petrochemical wastewater. **Water Science and Technology**. v. 39, n. 10-11, p. 17-23, 1999.
19. CASTRO, B. B.; ROSA, K. R. S. A.; BEZERRA, M. C. M.; ROSÁRIO, F. F.; ROCHA, A. A. Caracterização de fluido aquoso e resíduo de incrustação, amostrados no sistema de produção do campo de Pilar. **Relatório CENPES**. CT TRA-131/2007. Rio de Janeiro. Julho. 2007
20. CERNIGLIA, C. E. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Biodegradation**, v. 3. p. 351-368. 1992.
21. CHASIN, A. A. M.; AZEVEDO, F. A. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. RIMA Editora. São Paulo. 2003. 340p.
22. CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias,** Departamento de Engenharia Sanitária E Ambiental – DESA, Universidade Federal de Minas Gerais. v. 5. 1997.264p.
23. **CONAMA Nº 357/2005** - "Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências." - Data da legislação: 17/03/2005 - Publicação DOU: 18/03/2005.
24. **CONAMA Nº 393/2007** - "Dispõe sobre o descarte contínuo de água de processo ou de produção em plataformas marítimas de petróleo e gás natural, e dá outras providências." - Data da legislação: 08/08/2007 - Publicação DOU: 18/08/2007.
25. CRAMBERT, G; Li, C. M.; Swee, L. K.; Geering, K. F. Mapping of functional sites involved in endoplasmic reticulum export, association with and regulation of (Na^+, K^+)-ATPase. **J. Biol. Chem**. n. 279. 2004.
26. CURBELO, F. D. S. Estudo da remoção de óleo em águas produzidas na indústria de petróleo, por adsorção em coluna utilizando a vermiculita expandida e hidrofobizada. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Química). UFRN. Natal. 2002. 88p.
27. DALMACIJA, B.; KARLOVIC, E.; TAMAS, Z.; MISKOVIC, D. Purification of high-salinity watewater by activated sludge process. **Water Research.** v. 30, n. 2, p.295-298. 1996.
28. DeBAERE, L. A.; DEVOCHT, M.; VAN ASSCHE, P.; VERSTRAETE W. Influence of high NaCl and NH_4Cl salt levels on methanogenic associations. **Water Research**, v. 18, p. 543-548. 1984.
29. DÍAZ, E. E.; STAMS, A. J. M.; AMILS, R.; SANZ, J. L. Phenotypic properties and microbial diversity of methanogenic granules from a full-scale upflow anaerobic sludge bed reactor treating brewery wastewater. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, n.7, p.4942-4949. 2006.
30. DILALLO, R.; ALBERTSON, O. E. Volatile Acids by Direct Titration. Journal **Water Pollution Control Federation**, v. 33, n. 4, p. 356 - 365. 1961.
31. DINCER, A. R.; KARGI, F. Salt inhibition kinetics in nitrification of synthetic saline wastewater. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 28. p. 661-665. 2001.
32. DÓREA, H. S.; BISPO, J. R. L.; ARAGÃO, K. A. S.; CUNHA, B. B.; NAVICKIENE, S. ALVES, J. P. II.; ROMÃO, L. GARCIA, C. A. B. Analysis of BTEX, PAHs and Metals in the Oilfield Produced Water in the State of Sergipe, Brazil. **Microchemical Journal.** n. 85, p. 234-238. 2007.
33. E&P FORUM. Oil Industry International Exploration and Production Forum. North Sea **Produced Water: Fate and Effects in the Marine Environment**. London, 50p. Report. n.2.p. 62/204, 1994. 50 p.
34. EBRAHIMIPOUR G. H. H.; MARYAM, A.; SOURAKI A. A. Isolation of a petroleum-degrading halo tolerant bacterium and study the effects of environmental factors in biodegrading for environmental protection. **Environmental Sciences Summer**. v.2, n.8, p.65-74. 2005.

35. FEIJOO, G.; SOTO, M.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. Sodium inhibition in the anaerobic digestion process: Antagonism and adaptation phenomena. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 17. p. 180-188. 1995.
36. FERNÁNDEZ, L; HASHSHAM, S. A.; DOLLHOPF, S. L.; RASKIN, L.; GLAGOLEVA, O.; DAZZO, F. B.; HICKEY, R. F.; CRIDDLE, C. S.; TIEDJE, J. M. Flexible community structure correlates with stable community function in methanogenic bioreactor communities perturbed by glucose. **Applied and Environmental Microbiology,** v.66, n. 9, p.4058-4067, 2000.
37. FIELD, J. A. Limits of anaerobic biodegradation. In: 9º WORLD CONGRESS ANAEROBIC DIGESTION. 2001, Bélgica. **Anais...** Technological Institute, Antuérpia. Bélgica, 2001. v. 1, p. 45-52.
38. FIELD, J. A.; ALVAREZ, R. S.; LETTINGA, G. Ensayos anaerobios. In: 4º SEMINARIO DE DEPURACION ANAEROBIA DE AGUAS RESIDUALS. 1988, Spain. **Anais...** Universidad de Valladolid. Spain, 1988. p. 52-81.
39. FLORENCIO, L. **The fate of Methanol in anaerobic bioreactors.** Ph.D. Dissertation. Wageningen Agricultural University. Wageningen, The Netherlands. 1994.
40. FREIRE, D. D. C. Tratamento biológico aeróbio de efluentes salinos - Água de produção de petróleo. **Tese** (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 1999. 169 p.
41. FREIRE, D. D. C., CAMMAROTA, M. C., SANT'ANNA JR., G. L. Biological Treatment of Oil Field Wastewater in a Sequencing Batch Reactor. **Environ. Technol**., 22, 1125-1135. 2001.
42. GABARDO, I. T. Caracterização química e toxicológica da água produzida descartada em plataformas de óleo e gás na costa brasileira e seu comportamento dispersivo no mar. **Tese** (Doutorado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Rio Grande do Norte. 2007. 250p.
43. GABARDO, I. T; PLATTE, E. B.; LIMA, E. F. A.; ANDRADE, F. B. Caracterização do efluente da plataforma Curimã (PCR-1). **Relatório Técnico Parcial**. 2005.
44. GALLAGHER, J. R. **Anaerobic biological treatment of produced water**. Subtask 1.11 - Final report. AAD Document Control – U. S. Department of Energy. 2001.
45. GESAMP. **Impact of oil and related chemicals and wastes on the marine environment**. Reports and Studies. n. 50, 180p. 1993.
46. GIST, G. L.; BURG, J. R. Benzene – A review of the literature from a health effects perspective. **Toxicology and Industrial Health**, v. 13, n. 6, p. 661-714.1997.
47. GOETTEMS, E. M. P.; SIMON, Z.; BALDASSO, M. L.; FERREIRA, E. S. SITEL: A successful petrochemical wastewater treatment system. **Water Science and Technology**. v. 20, n. 10, p.141-162, 1988.
48. GUERRERO, L.; OMIL, F.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M. Treatment of saline wastewaters from fish meal factories in an anaerobic filter under extreme ammonia concentrations. **Bioresource Technologic.** v. 61, p. 69-78. 1997.
49. GUSMÃO, V. R. Caracterização microbiológica de cultura desnitrificante de reator anaeróbio horizontal de leito fixo utilizado na remoção de BTEX. São Carlos. Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. **Tese** (Doutorado em Hidráulica e Saneamento). 2005.
50. HAGOPIAN-SCHLEKAT, T.; CHANDLER, G. T.; SHAW, T. J. Acute toxicity of five sediment-associated metals, individually and in a mixture, to the estuarine meiobenthic harpacticoid copepod *Amphiascus tenuiremis.* **Marine Environmental Research**. n.51, p.247-264. 2001.
51. HAMILTON, M. A; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Karber Method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. **Environ. Sci. Technol**. v.11, n.7, p.714-719. 1977.
52. HANSEN, B. R.; DAVIES, S. R. H. Review of Potencial Technologies for the Removal of Dissolved Components from Produced Water. **Institution of Chemical Engineers.** v. 72, p. 176-188. 1994.

53. HARREL, R. C. Effects of a crude oil spill on water quality and macrobenthos of a southeast Texas stream. **Hydrobiology**. n.24, p.223–228. 1985.
54. HASHSHAM, S. A.; FERNÁNDEZ, A. S.; DOLLHOPF, S. L.; DAZZO, F. B.; HICKEY, R. F.; TIEDJE, J. M.; CRIDDLE, C. S. Parallel processing of substrate correlates with greater functional stability in methanogenic bioreactor communities perturbed by glucose. **Applied and Environmental Microbiology,** v.66, n. 9, p.4050-4057, 2000.
55. HEIDER J.; SPORMANN A. M.; BELLER, H. R.; WIDDEL, F. Anaerobic bacterial metabolism of hydrocarbons. **FEMS Microbiology Reviews**. v. 22. p. 459-473. 1999.
56. HENDERSON, S. B.; GRISON, S. J. W.; JOHNSON, P.; RODDIE, B. D. Potential impact of production chemicals on the toxicity of produced water discharges from North Sea oil platforms. **Marine Pollution.** v. 38, n.12. p.1141-1151. 1999.
57. HESSELINK, W.; RUUD H. N. A.; SCHIFFER A.; KOOTSTRA, R. P. Separation of polycyclic aromatic hydrocarbons on a wide-pore polymeric C18 bonded phase. **Journal of Chromatography A**. n.697, p.165-174. 1995.
58. HIRASAWA, J. S. Avaliação da comunidade microbiana anaeróbia em reator sulfetogênico utilizando a hibridização in *situ* com sondas fluorescentes. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2003.
59. HOLLINGER, C.; ZEHNDER, A. JB. Anaerobic Biodegradation of Hydrocarbons. **Current Opinion in Biotechnology**. v.7, p. 326-330. 1996.
60. HORI, T.; HARUTA, S.; UENO, Y.; ISHII, M.; IGARASHI, Y. Dynamic transition of amethanogenic population in response to the concentration of volatile fatty acids in a themophilic anaerobic digester. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 2, p.1623- 1630, 2006.
61. IPCS-INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. Environmental Criteria 202. **Seleceted Non-heterocyclic PAHs**. World Health Organization, Geneva. 1998.
62. ISMAIL, S. B.; GONZALEZ, P.; JEISON, D.; van LIER, J. B. Effects of high salinity wastewater on methanogenic sludge bed systems. **Water Science and Technology**. v. 58, n. 10, p. 1963-1970. 2008.
63. JAMES, A., CHERNICHARO, C. A. L., CAMPOS, C. M. M. The development of a new methodology for the assessment of specific methanogenic activity. **Water Research**, v. 24, p. 813-825, 1990.
64. JEISON, D.; DEL RIO, A.; van LIER, J. B. Impact of high wastewaters on anaerobic granular sludge functionalities. **Water Science and Technology**. v. 57, n. 6, p. 815-819. 2008.
65. JENKINS, S. R.; MORGAN, J. M.; SAWYER, C. L. Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. **Journal of water pollution control federation**, v.55, n.5, p. 448-453. 1983.
66. JETTEN, M. S. M.; STAMS, A. J. M.; ZEHNDER, A. J. B. Methanogenesis from acetate: a comparison of the acetate metabolism in *Methanothrix soehngenii* and *Methanosarcina* spp. **FEMS Microbiology Reviews**, 88, p. 181-198, 1992.
67. JI, G. D.; SUN T. H.; NI J. R.; TONG J. J. Anaerobic baffled reactor (ABR) for treating heavy oil produced water with high concentrations of salt and poor nutrient. **Bioresource Technology**. n. 100. p. 1108-1114. 2009.
68. KARGI, F.; DINCER, A. R. Effect of salt concentration on biological treatment of saline wastewater by fed-batch operation. **Enzyme and Microbial Technology**. v.19, p.529-537. 1996.
69. KARGI, F.; UYGUR, A. Biological Treatment of Saline Wastewater in an Aerated Percolator Unit Utilizing Halophilic Bacteria. **Env. Tech**. v.17, p.325-320. 1996.
70. KENNISH, M. J. **Pollution impacts on marine biotic communities**. Boca Raton, Florida. CRC Press Inc. 310 p. 1997a.
71. KENNISH, M. J. **Pratical Handbook of Estuarine and Marine Pollution.** Boca Raton, Florida. CRC Press Inc. 524 p. 1997b.

72. KLEEREBEZEM, R.; MORTIER, J.; HULSHOFF POL, L.; LETTINGA, G. Anaerobic pre-treatment of petrochemical effluents: terephalic acid wastewater. **Water Science and Technology**. v. 36, n. 2-3, p. 237-248. 1997.
73. KRONGTHAMCHAT, K.; RIFFAT, R. Specific methanogenic activity of halophilic and mixed cultures in saline wastewater. **Int. J. Environ. Sci. Tech.** v. 2, n. 4, p. 291-299. 2005.
74. KUGELMAN, I. J.; CHIN, K. K. Toxicity, Sinergism and Antagonism in Anaerobic Waste Treatment Processes. In: **Advances in Chemistry**, Series 105, ed. RF Gould, American Chemical Society, Washington DC, p. 55-90. 1971.
75. KUGELMAN, I. J.; MC CARTY, P. L. Cation toxicity and stimulation in anaerobic waste treatment. **J. Wat. Pollut. Control Fed**. v. 37, p. 97-116. 1965.
76. LECLERC, M.; DELGÈNES, JP.; GODON, JJ. Diversity of the archaeal community in 44 anaerobic digesters as determined by single strand conformation polymorphism analysis and 16S rDNA sequencing. **Environmental Microbiology,** v. 6, n.8, p. 809-819, 2004.
77. LEFEBVRE, O.; MOLETTA, R. Treatment of organic in industrial saline wastewater: A literature review. **Water Research**. v. 40, p. 3671-3682. 2006.
78. LEFEBVRE, O.; QUENTIN, S.; TORRIJOS, M.; GODON, J. J.; DELGENÉS, J. P.; MOLETTA, R. Impact of increasing NaCl concentrations on the performance and community composition of two anaerobic reactors. **Appl. Microbiol. Biotechnol**. v. 75. p. 61-69. 2007.
79. LEITÃO, R. C.; HAANDEL, A. C.; ZEEMAN, G.; LETTINGA, G. The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: a rewiew. **Bioresource Technology,** v. 97, p. 1105-1118, 2006.
80. LETTINGA, G.; ZEEUW, W; WIEGANT, W.; HOLSHOFF POL, L. High-rate anaerobic granular sludge UASB-reactors for wastewater treatment. **Bioenviron. Syst**. n.1 p. 132–159. 1987.
81. LIU, Y.; LEE, M. L. Solid-Phase Microextraction of PAHs from Aqueous Samples Using Fibers Coated with HPLC Chemically Bonded Silica Stationary Phases. **Anal. Chem**. v.69, p.5001-5005. 1997.
82. LOTUFO, G. R. Toxicity of sediment-associated PAHs to an estuarine copepod: Effects on survival, feeding, reproduction and behavior. **Mar. Environ. Res**. v. 44, n.2, p.149-166. 1997.
83. LOTUFO, G. R.; ABESSA, D. M. S. Testes de toxicidade com sedimento total e água intersticial estuarinos utilizando copépodos bentônicos. In: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**. São Paulo: Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda., 2002. 262 p.
84. LOTUFO, G. R.; FLEEGER, J. W. Effects of sediment-associated phenanthrene on survival, development and reproduction of two species of meibenthic copepods. **Mar. Ecol.-Prog. Ser**. v. 151, n. 1-3, p. 91-102. 1997.
85. LU, J.; WANG, X.; SHAN, B.; LI, X.; WANG, W. Analysis of chemical compositions contributable to chemical oxygen demand (COD) of oilfield produced water. **Chemosphere**. v. 62, p. 322-331. 2006.
86. LUCENA, R. M. Identificação molecular da diversidade microbiana em reator UASB de estação de tratamento de esgoto. **Dissertação** (Mestrado em genética). Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2008. 63p.
87. LUDZACK, F. J.; NORAN, D. K. Tolerance of high salinites by conventional wastewater treatment processes. **Water pollution control federation**. v. 37, n. 10, p. 1404-1416. 1965.
88. MARCE, R. M.; BORRULL. F. Review Solid-phase extraction of polycyclic aromatic compounds. **Journal of Chromatography A**. n.885 p.273–290. 2000.
89. MARGESIN, R; SCHINNER, F. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. **Applied Microbiology Biotechnol,** v. 56, p.650-663, 2001.

90. McCARTY, P L.; McKINNEY, R. E. Salt Toxicity in Anaerobic Digestion. **Water Pollution Control Federation.** v.33, p. 399-415. 1961.
91. McCARTY, P. L. Anaerobic Waste Treatment Fundamentals. Public works, part three – **Toxic Materials and their Control**. p. 91-94. 1964.
92. MENZIE, C. A. The environmental implications of offshore oil and gas activities. **Environmental Science Technology**. v. 16, n. 8, p.454-472. 1982.
93. METCALF & EDDY. Wastewater Engineering-Treatment, Disposal, Reuse. Third Edition. McGRAW-HILL. 1991.
94. MONTEGGIA, L. Proposta de metodologia para avaliação do parâmetro 'Atividade Metanogênica Específica. **Anais...**In: 19 CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, ABES, Foz do Iguaçu, 1997.
95. NARDI, I. R. **Degradação de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX) em reator anaeróbio horizontal de leito fixo** (RAHLF). Tese (Doutorado em Saneamento) - Departamento de Hidráulica e Saneamento - Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2002. 165 p.
96. NEFF, J. M. Bioaccumulation in marine organisms. **Effect of contaminants from oil well produced water**. Elsevier, London, 1st. ed. 2002. 452 p.
97. OGP - The International Association of Oil & Gas Producers. **Fate and effects of naturally occurring substances in produced water on marine environment**. Report 364. February - 2005, 36p.
98. OLIVEIRA, R. C. G.; OLIVEIRA, M. C. K. Remoção de contaminantes tóxicos dos efluentes líquidos oriundos da atividade de produção de petróleo no mar. **Bol. téc. PETROBRAS**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 2. p. 129-136. 2000.
99. OLMO, L. N. Avaliação do antagonismo do efeito do sódio sobre o tratamento de água residuária de "charqueada" com elevada salinidade em reator anaeróbio de manta de lodo (UASB). **Dissertação** (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, USP. 2005.
100. PIMENTEL, P. M. Remoção de metais pesados em águas produzidas usando xisto retortado como adsorvente. TESE (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais). NATAL. 2005. 128p.
101. PIMENTEL, P. M.; ANJOS, M. J.; MELO, D. M. A. Multi-elemental analysis of produced water by synchrotron radiation total reflection X-ray fluorescence. **Talanta**. n.74, p.1231–1235. 2008.
102. PINHATI, F. R Caracterização molecular da população microbiana do lodo de Refinaria de Petróleo por PCR-DGGE e RAPD. **Dissertação** (Mestrado em Bioquímica). UFRJ. Dept. Bioquímica. 2008. 105p.
103. PLACE, M. C. Dissolved Organic Compounds in Produced Water. IN: **SPE Annual Technical Conference and Exhibition**, 6-9 October, 1991, Dallas, Texas. 1991.
104. POOLMAN, B.; GLAASKER, E. Regulation of compatible solute accumulation in bacteria. **Molecular Microbiology**. v. 29, n. 2, p. 397-407. 1998.
105. REBHUN, M.; GALIL, N. Technological strategies for protecting and improving the biological treatment of wastewater from a petrochemical complex. **Water Science and Technology**. v. 29, n. 9, p. 133-141, 1994.
106. RIBAS, M. M. F.; MORAES, E. M.; FORESTI, E. Avaliação da acurácia de diversos métodos para determinação de ácidos graxos voláteis e alcalinidade a bicarbonato para monitoramento de reatores anaeróbios. **Eng. San. Ambiental.** v. 12, n.3- jul/set 2007, p. 240-246. 2007.
107. RIBEIRO, C. M. S. Ozonização de Efluentes da Indústria de Petróleo. DISSERTAÇÃO (Mestrado) PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 1995.
108. RICÓN, N.; CHACIN, E.; MOSCOSO, J.; FERNANDEZ, L.; TORRIJOS, M.; MOLETTA, R.; FERNANDEZ N. Optimum time of hydraulic retention for the anaerobic treatment of light oil production wastewater. **Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia**. v. 25, n. 2. Maracaibo. 2002.

109. RIFFAT, R.; KRONGTHAMCHAT, K. Specific methanogenic activity of halophilic and mixed cultures in saline wastewater. **International Journal of Environmental Science and Technology**. v. 2, n.4. p. 291-299. 2006.
110. RIFFATAND, R.; KRONGTHAMCHAT, K. Specific methanogenic activity of halophilic and mixed cultures in saline wastewater. **Int. J. Environ. Sci. Tech**. v. 2, n. 4. p. 291-299. 2006.
111. RINZEMA, A.; LIER, J. V.; LETTINGA, G. Sodium inhibition if Acetoclastic methanogens in granular sludge from a UASB reactor. **Enzyme Microbiologic Technology**. v.10, p. 24-32. 1988.
112. RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal WPCF**, Alexandria, v.48, n.5, p.406-11, 1986.
113. ROCHA, A. A.; MIEKELEY, N.; SILVEIRA, C. L. P.; BEZERRA, M. C. M. Determinação de fósforo orgânico em águas de produção petrolífera por ICP- AES e ICP- MS após pré-concentração em coluna de sílica-C18. **Química Nova**. v.21, n.5, p. 584-589. 1998.
114. SANTOS, M. R. G.; GOULART, M. O. F.; TONHOLO, J.; ZANTA, C. L. P. S. The application of electrochemical technology to the remediation of oily wastewater. **Chemosphere**, n.64. p. 393-399. 2006.
115. SANTOS, S. M.; WIESNER, M. Ultrafiltration of Water Generated in Oil and Gas Production. **Water Environment**. **Res**., v.69, n.6, p.1120-1127, 1997.
116. SANTOS, T. A. Caracterização e tratamento físico-químico por flotação de água produzida de petróleo. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Civil). Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2009.
117. SARNI, A.; Onorati, F.; Faraponova, O; Ruggiero, G. **Effects of nutrients and salinity as possible confounding factors in marine bioassays**. Abstracts. In: 45th Congress of the European Societies of Toxicology. Toxicology Letters. v. 180. s.1. p. S199. 2008.
118. SAUER Jr, T. C. Volatile Liquid Hidrocarbon Characterization of Underwater Vents and Formation Waters from Offshore Production Operations. **Environmental Science & Technology**, v. 15, n. 8, p. 917- 923, 1981.
119. SEABRA, P. N. Uso da biorremediação em áreas impactadas pela indústria de petróleo. In: II Workshop sobre biodegradação. **Anais...** Campinas. Jaguarúna, SP: EMBRAPA. 2001.
120. SILVA, C. R. R. **Água produzida na extração do petróleo.** Escola Politécnica. Departamento de hidráulica e saneamento. Curso de especialização em gerenciamento e tecnologias ambientais na indústria. Monografia. 2000.
121. SILVA, J. B. Biodegradabilidade anaeróbia de água de produção de petróleo**. Dissertação** (Mestrado em Engenharia Civil). Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2008. 70p.
122. SILVA, S. R.; TONHOLO, J.; ZANTA, C. L. P. S. Aplicação de processos oxidativos avançados no tratamento de água produzida de petróleo. In: 3º CONGRESSO BRASILEIRO DE P&D EM PETRÓLEO E GÁS. **Anais...** Salvador, 2005.
123. SLEATOR, R. D.; HILL, C. Bacterial osmoadaptation: the role of osmolytes in bacterial stress and virulence. **Fems Microbiology Reviews**. 26, p. 49-71. 2001.
124. SOUSA, E. C. P. M. **Toxicologia marinha**: Histórico. In: NASCIMENTO, I. A.; SOUSA, E. C. P. M.; NIPPER, M.(eds.) Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil. São Paulo: Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda., 262 p. 2002.
125. SPEECE, R. E. **Anaerobic Biotechnology and odor/corrosion control for municipalities and industries.** Nashville, Tennessee, Archae Press. 2008.
126. SPEECE, R. E. **Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters.** Nashville, Tennessee, Archae Press. 1996.
127. STANDARD METHODS FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. APHA, AWAA, and WPCF. Washington D.C., **American Publications Health Association**. 29 ed. 1995.

128. STREET, G.T.; LOTUFO, G.R.; MONTAGNA, P.A.; FLEEGER, J.W. Reduced genetic diversity in a meiobenthic copepod exposed to a xenobiotic. **J. Exp. Mar. Biol. and Ecol**. v. 222, p. 93-111. 1998.
129. SUFLITA, J. Anaerobic bioconversion of petroleum compounds. In: First international conference on petroleum biotechnology: State of the art and perspectives. 2000, Mexico. **Anais…** Mexico City, p.13, february. 2000.
130. TELLEZ, G. T.; NIRMALAKHANDAN, N.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Performance evaluation of an activated sludge system for removing petroleum hydrocarbons from oilfield produced water. **Adv. Environ. Res**. v.6, n.4, p.455–470. 2002.
131. TERZIS, E. Anaerobic treatment of industrial wastewater containing organic solvents. **Water Science and Technology**. v. 29, n. 9, p. 321-329, 1994.
132. THOMAS, J. E. **Processamento Primário de Fluidos.** In: Fundamentos de Engenharia de Petróleo. Ed. Interciência, RJ. cap. 9, p. 255-267. 2001.
133. TORRES, P. Desempenho de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgotos sanitários. **Dissertação** (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, USP. 1992.
134. URURAHY, A. F. P. Biodegradação de resíduo oleoso proveniente de refinaria de petróleo. **Tese** (Doutorado em Química) - Escola de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 1998. 344 p.
135. UTVIK, T. I. R. Chemical characterization of produced water from four offshore oil production plataforms in the north sea. **Chemosphere**. v.39, n. 15. p. 2593-2606. 1999.
136. UYGUR, A.; KARGI, F. Salt inhibition on biological nutrient removal from saline wastewater in a sequencing batch reactor. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 34. p. 313-318. 2004.
137. VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Tratamento anaeróbio de esgotos**: um manual para regiões de clima quente. Campina Grande: Epgraf, 1994.
138. VAZOLLER, R. F. Avaliação do ecossistema microbiano de um biodigestor anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com vinhaça sob condições termofílicas. **Tese** (Doutorado em Engenharia). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 1995.
139. VENDRAMEL, S.; DEZOTTI, M.; SANT´ANNA Jr. G. L. Treatment of petroleum refinery wastewater in a submerged fixed-bed aerobic bioreactor. In: 2nd Mercosur Congress on chemical engineering and 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering, **Anais…** Rio de Janeiro, 2005.
140. VIEIRA, D. S.; CAMMAROTA, M. C.; SÉRVULO, E. F: C. Redução de contaminantes presentes na água de produção de petróleo. In: 2º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás. **Anais...** Rio de Janeiro, 2003.
141. VIEIRA, D. S.; CAMMAROTA; SÉRVULO, E. F. C. Tratamento Biológico Anaeróbio de Compostos Potencialmente Tóxicos em Água de Produção. In: XV Congresso Brasileiro de Engenharia Química. **Anais....** 2004.
142. VIEIRA, F. C. S. Toxicidade de Hidrocarbonetos Monoaromáticos do Petróleo sobre Metamysidopsis elongata atlantica (Crustacea: Mysidacea). **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Santa Catarina. 2004. 72p.
143. VIEIRA, P. A; FARIA, S.; VIEIRA, R. B.; DE FRANÇA, F. P.; CARDOSO, V. L. Statistical analysis and optimization of nitrogen, phosphorus, and inoculum concentration for the biodegradation of petroleum hydrocarbons by response methodology. **World J. Microbiology Biotechnology**. n. 25. p. 427-438. 2009.
144. VYRIDES, I.; STUCKEY, D. C. **Effects of sodium on anaerobic biomass and their soluble microbial products (SMPs).** IWA 8th National UK Young Water Professionals Conference, University of Surrey. p. 101-108. 2007.
145. WEISMAN, W. (ed). **Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Environmental Media.** Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series. v. 1. Air Force Research Laboratory, Operational Toxicology Branch by Amherst Scientific Publishers. 1998. 98p.

146. WHITMAN, W. B.; BOWEN, T, L.; BOONE, D. R. **The methanogenic bacteria**. In: The Prokariotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, application. H. G. T. A. Balows, M. Dworkin, W. Harder, K. H. Schleifer. NY, Springer-Verlag, p. 719-767, 1992.
147. WIDDEL, F.; RABUS, R. Anaerobic Biodegradation of Saturated and Aromatic Hydrocarbons. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 12, p. 259-276. 2001.
148. WOODALL, D. W.; GAMBRELL, R. P.; RABALAIS, N. N. Developing a method to track oil and gas produced water discharges in estuarine systems using salinity as a conservative tracer. **Mar. Pollut. Bull**. v.42, n.11. p. 1118–1127. 2001.
149. WOOLARD C. R.; IRVINE, R. L. Treatment of hypersaline wastewater in the sequencing batch reactor. **Water Research**. v. 29, n.4, p.1159-1168. 1995.
150. YERKES, D. W; BOONYAKITSOMBUT, S.; SPEECE, R. E. Antagonism of Sodium Toxicity by the Compatible Solute Betaine in Anaerobic Methanogenic Systems. **Water Science Technology**. v. 36, n. 6-7, p. 15-24. 1997.
151. YU, Y.; LEE, C.; HWANG, S. Analysis of community structures in anaerobic processes using a quantitative real-time PCR method. **Water Science and Technology,** v. 52, n.1-2, p. 85-91, 2005.
152. ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática**: Princípios e aplicações. 1ed. Rima: São Paulo. 478p. 2006.
153. ZHANG, Y; AIYUK, S.; XU, H.; CHEN, G. X.; VERSTRAETE, W. Study of microbial community structures in UASB sludge treating municipal wastewater by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA. **Science in China Series C – Life Sciences**, v. 48, p. 128- 135. supl.1, 2005.
154. ZOBELL C. E.; ANDERSON D. Q.; SMITH W. W. The bacteriostatic and bactericidal action of Great Salt Lake Water. **J. Bacteriol**. v. 33, p. 253-262. 1937.

APÊNDICE A: Gráficos Temporais dos Reatores UASB.

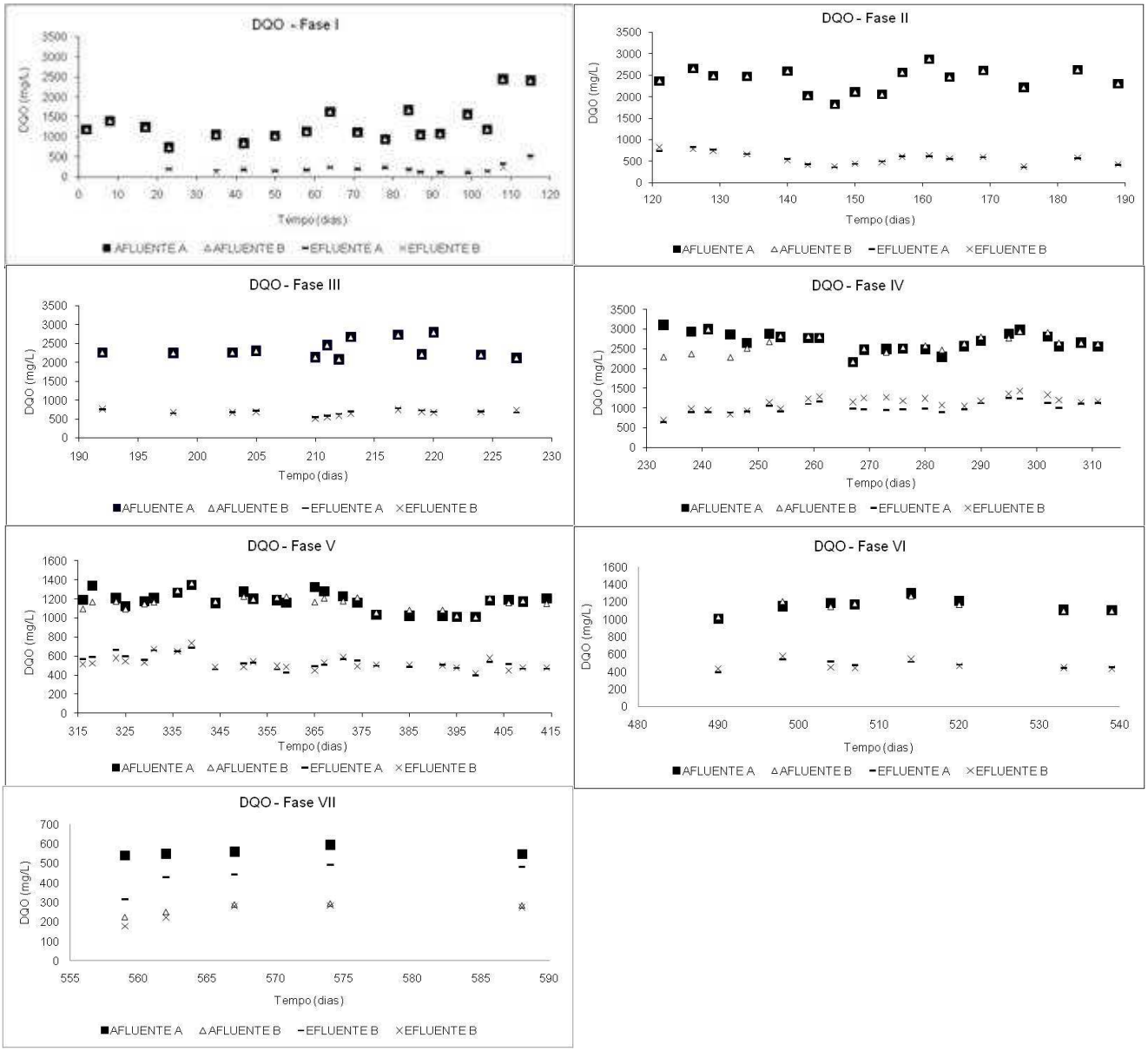


Figura A.1: Gráficos de DQO bruta nas fases operacionais I até VII.

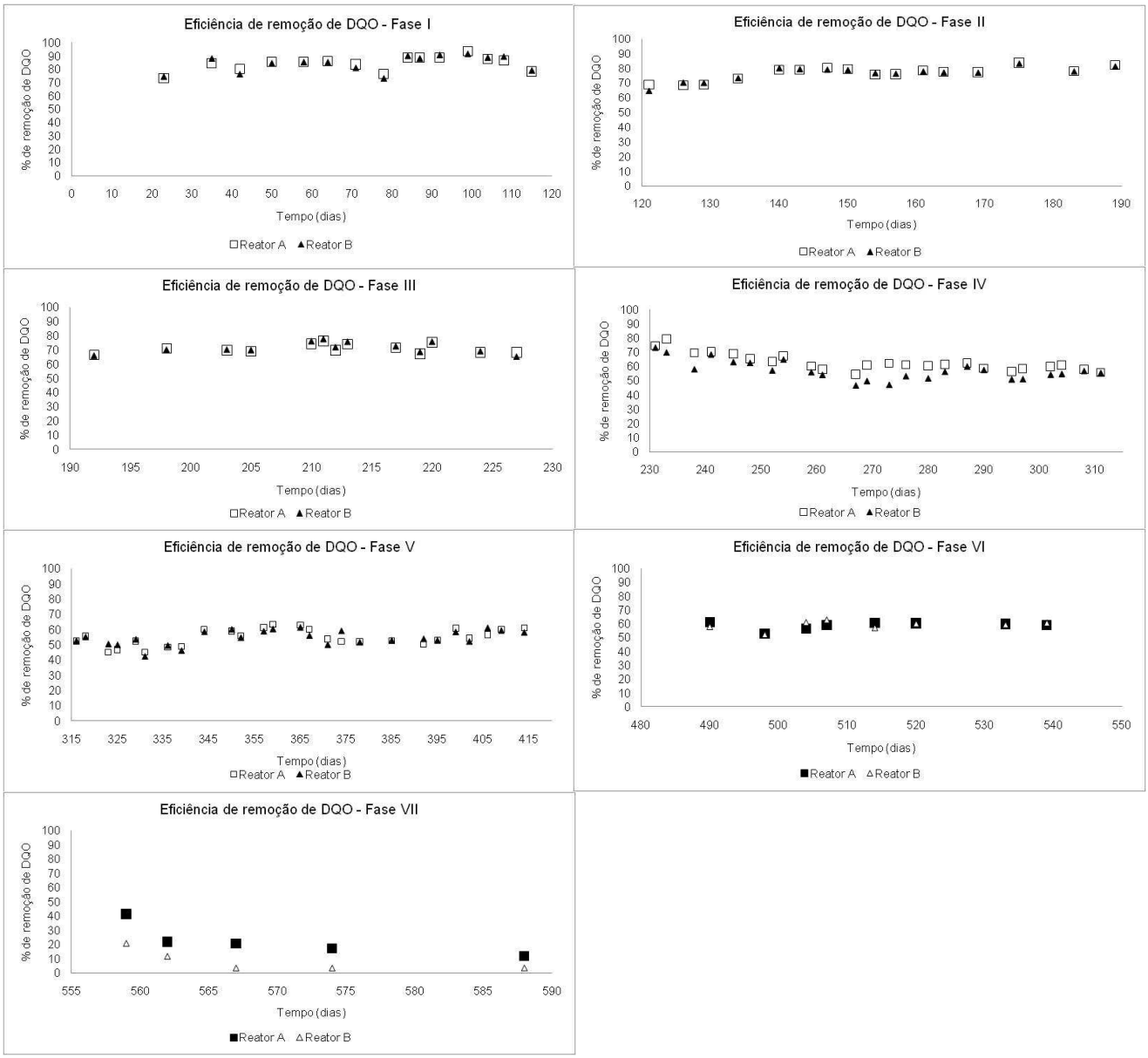


Figura A.2: Gráficos de eficiência de remoção de DQO bruta nas fases operacionais I até VII.

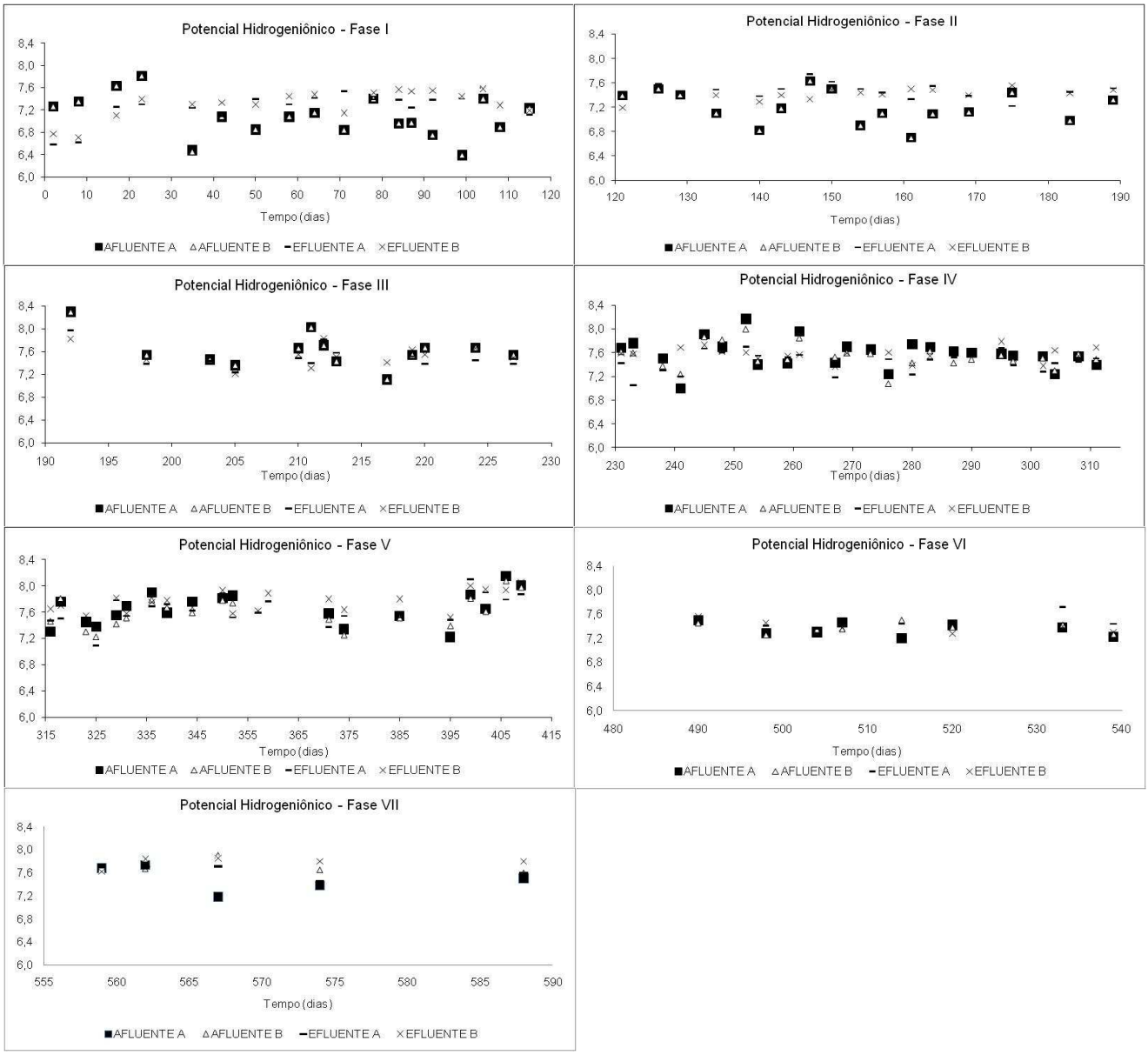


Figura A.3: Gráficos de potencial hidrogeniônico nas fases operacionais I até VII.

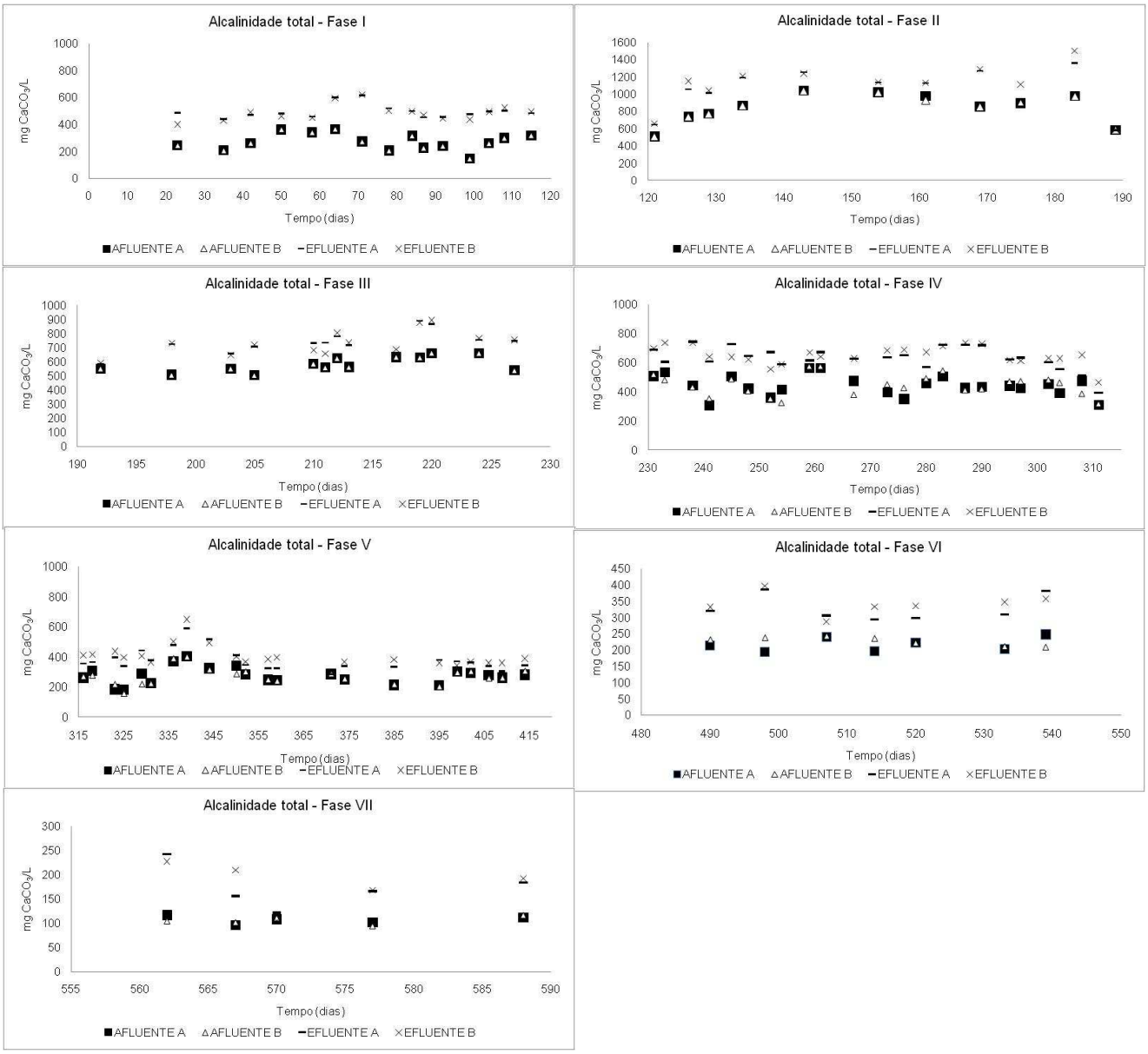


Figura A.4: Gráficos de alcalinidade total nas fases operacionais I até VII.

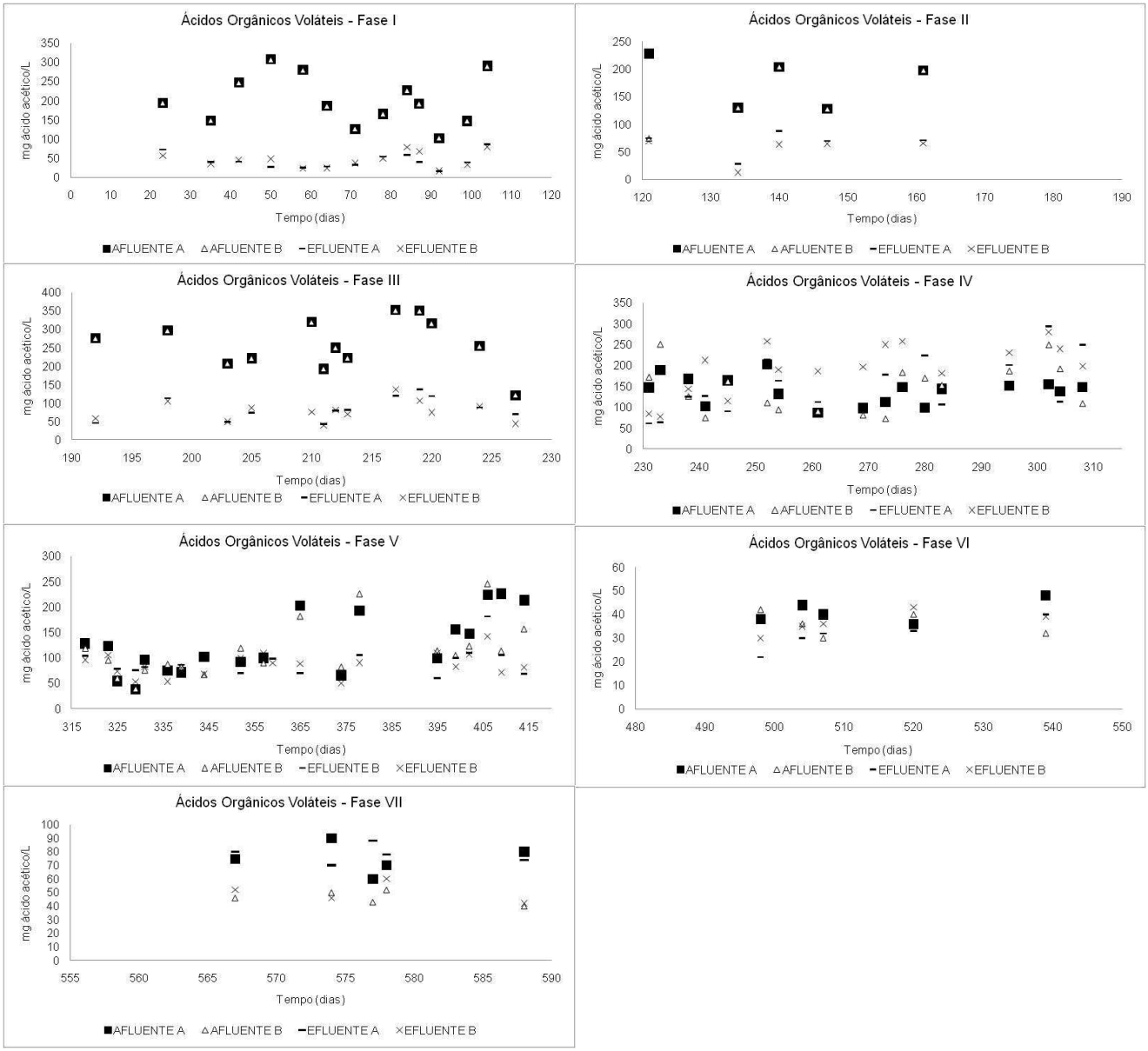


Figura A.5: Gráficos de ácidos orgânicos voláteis nas fases operacionais I até VII.

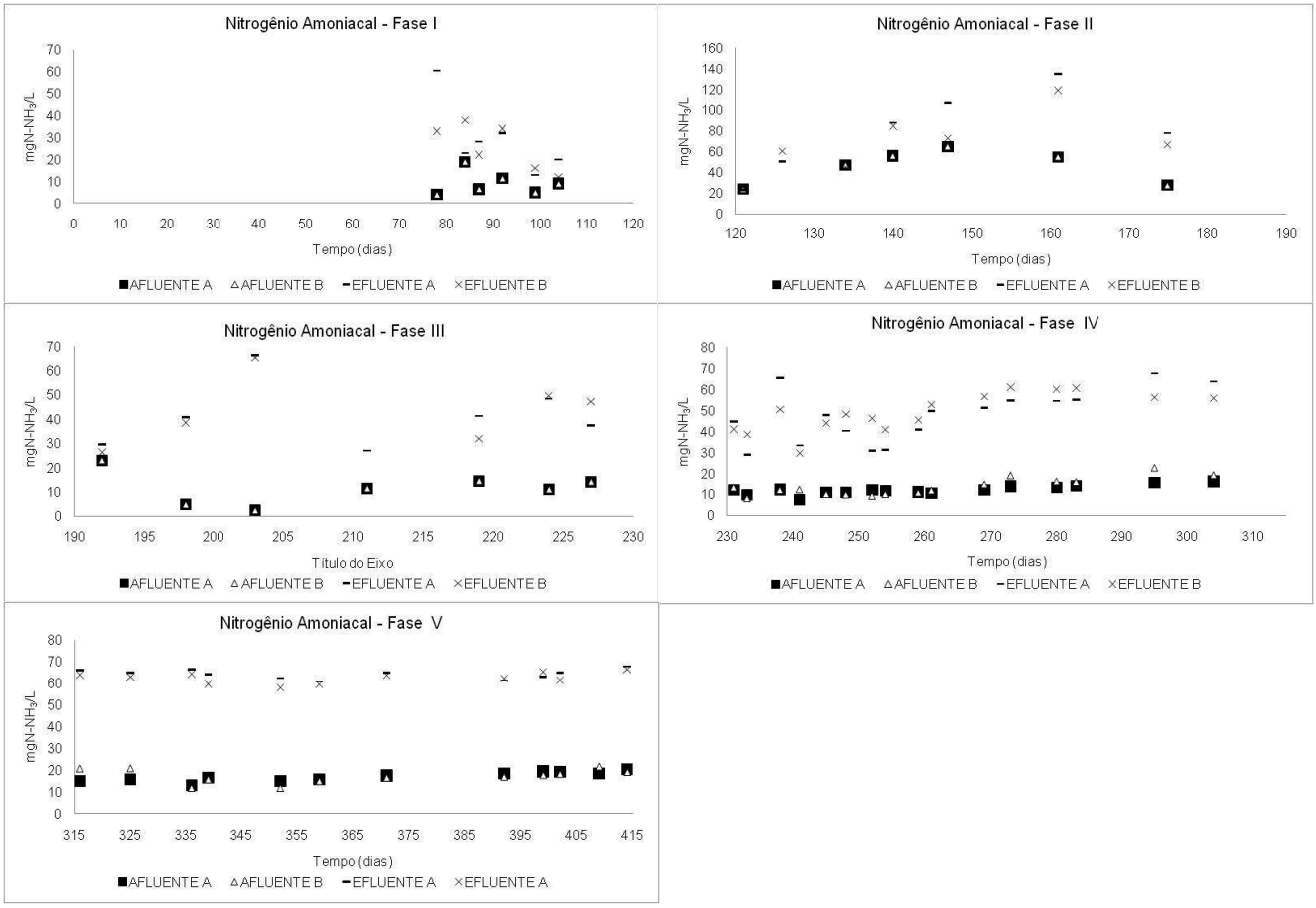


Figura A.6: Gráficos de nitrogênio amoniacal nas fases operacionais I até V.