

# USP

## Campus de São Carlos

**TRATAMENTO DE FENOL EM REATOR  
ANAERÓBIO HORIZONTAL DE LEITO FIXO  
(RAHLF) SOB CONDIÇÕES MESOFÍLICAS**

**MARIA LYDA BOLAÑOS ROJAS**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Eugenio Foresti**

## UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



## ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS  
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO**

**TRATAMENTO DE FENOL EM REATOR ANAERÓBIO  
HORIZONTAL DE LEITO FIXO (RAHLF) SOB CONDIÇÕES  
MESOFÍLICAS**

Serviço de Pós-Graduação EESC/USP  
**EXEMPLAR REVISADO**  
Data de entrada no Serviço: 21 / 05 / 01  
Ass.: *Guilherme*

**MARIA LYDA BOLAÑOS ROJAS**



Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Hidráulica e Saneamento.

DEDALUS - Acervo - EESC



31100035703

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Eugenio Foresti**

São Carlos - SP

2001

Classe.	TESE
Cult.	1303
Tombo	T0125/01

st 1187962

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento  
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

B687t Bolaños Rojas, María Lyda  
Tratamento de fenol em reator anaeróbio horizontal  
de leito fixo (RAHLF) sob condições mesofílicas /  
María Lyda Bolaños Rojas. -- São Carlos, 2001.

Tese (Doutorado) -- Escola de Engenharia de São  
Carlos-Universidade de São Paulo, 2001.

Área: Hidráulica e Saneamento.

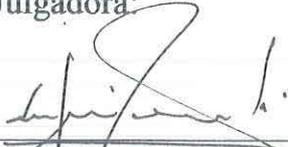
Orientador: Prof. Dr. Eugenio Foresti.

1. Processo anaeróbio. 2. Biorremediação. 3. Reator  
de filme fixo. 4. Fenol. 5. Tratamento de águas  
residuárias. I. Título.

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

Candidata: Ingeniera **MARIA LYDA BOLAÑOS ROJAS**

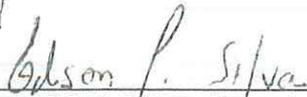
Tese defendida e aprovada em 20-04-2001  
pela Comissão Julgadora:



Prof. Titular **EUGENIO FORESTI (Orientador)**  
(Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo)



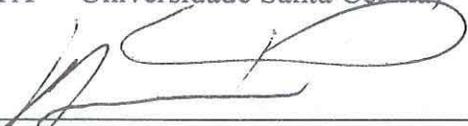
Prof. Doutor **MARCELO ZAIAT**  
(Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo)



Prof. Doutor **EDSON LUIZ SILVA**  
(UFSCar - Universidade Federal de São Carlos)



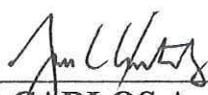
Prof. Doutor **DEOVALDO DE MORAES JUNIOR**  
(UNISANTA - Universidade Santa Cecília)



Prof. Doutor **HENRY XAVIER CORSEUIL**  
(UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina)



Prof. Associada **MARIA DO CARMO CALIJURI**  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação  
em Engenharia (Hidráulica e Saneamento)



**JOSÉ CARLOS A. CINTRA**  
Presidente da Comissão de Pós-Graduação

*A Laura, que veio no momento  
certo para dar luz a minha vida;*

*A José Antônio, meu amor.*

## AGRADECIMENTOS

Ao professor **Eugenio Foresti**, pela excelente orientação e incentivo. Especialmente pela compreensão, crédito de confiança e apoio incondicional para conclusão da tese.

Ao professor **Marcelo Zaiat**, pela co-orientação, pela paciência, pela revisão, pela imprescindível ajuda e pelas muitas dúvidas solucionadas no tratamento cinético dos resultados experimentais.

Ao **Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología - COLCIENCIAS**, pelo tempo concedido para a realização deste trabalho.

À **Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES**, pela bolsa de estudo concedida.

Aos meus pais, **Isabel e Tibério** por seu apoio, seu grande amor, que ainda longe viveram comigo cada instante de minha vida, nesta fase que termina.

Aos meus irmãos, **Alberto, Ana Cristina, Maria Eugenia e Maria Bonny**, por seu apoio e seu amor.

Aos amigos do laboratório especialmente à , **Lorena, Patrícia, Ariuska, Márcia, Ivana, Francisco, Giovana, Deise, Nélia, Viviane, Deísa, Cláudio, Dirlane, Silvana, Margarida** pelo carinho e apoio no momento mais lindo de minha vida: a gravidez e nascimento de minha linda **Laura**.

À professora **Elisabeth Moraes** e à técnica **Maria Ângela Talaricco** pela ajuda incondicional e pelos ensinamentos práticos em cromatografia e nas análises realizadas no laboratório de anaeróbios.

Às Biólogas **Eloísa Pozzi** e **Maria Bernadete Varesche**, pela ajuda na realização dos exames microbiológicos e pelo apoio técnico durante a realização das análises no laboratório de Anaeróbios.

À **Pavi, Sá** e **Rose** do SHS, sempre dispostas a ajudar.

À **todos aqueles** que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

Ao **Departamento de Hidráulica e Saneamento** da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, pela oportunidade oferecida na realização do doutorado.

*“Aprender é descobrir aquilo que  
você já sabe. Fazer é demonstrar  
que você o sabe. Ensinar é lembrar  
aos outros que eles sabem quanto  
você. Vocês são todos aprendizes,  
fazedores, professores.”*

*Richard Bach*

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	I
LISTA DE TABELAS.....	V
LISTA DE SIMBOLOS.....	VII
ABREVIATURAS.....	IX
RESUMO.....	XI
ABSTRACT.....	XII
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 – OBJETIVOS.....	5
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
3.1 - Composição e estrutura química dos compostos fenólicos.....	6
3.2 – Águas residuárias geradas pelo uso industrial de compostos fenólicos.....	7
3.3 – Origem e uso doméstico de compostos fenólicos.....	9
3.4 – Biodegradação anaeróbia e remoção de fenol.....	9
3.4.1 – Metabolismo anaeróbio do fenol.....	12
3.4.2 – Compostos aromáticos convertidos a fenol, como intermediário, durante a degradação anaeróbia.....	19
3.4.3 – Reações envolvidas na conversão de benzoato em metano.....	21
3.4.4 – Nutrientes necessários para a degradação metanogênica de fenol.....	22
3.4.5 – Microrganismos envolvidos na degradação anaeróbia de fenol.....	24
3.5 – Degradação de fenol em reatores com operação em batelada ou semi-contínua..	26

<b>3.6 – Degradação de fenol em reatores com alimentação contínua.....</b>	<b>27</b>
<b>3.7 – Reatores biológicos de filme fixo utilizados na remoção de fenol .....</b>	<b>29</b>
3.7.1 – Capacidade de retenção dos microrganismos na remoção do fenol.....	29
3.7.2 – Utilização de materiais suporte para adesão de microrganismos na remoção de fenol.....	30
3.7.3 – Imobilização de biomassa utilizada na remoção de fenol por processo anaeróbio	32
<b>3.8 – Cinética de crescimento microbiano e de inibição por substrato na degradação de fenóis.....</b>	<b>34</b>
<b>3.9 – Modelagem matemática para reatores biológicos heterogêneos .....</b>	<b>39</b>
3.9.1 – Modelagem matemática do Reator anaeróbio Horizontal de Leito Fixo aplicado no tratamento de águas residuárias.....	42
<b>3.10- Técnicas analíticas utilizadas na determinação de fenol .....</b>	<b>45</b>
<b>3.11 - Considerações finais .....</b>	<b>46</b>
<b>4 - MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>49</b>
<b>4.1 – Descrição do Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF).....</b>	<b>49</b>
<b>4.2 – Operação do reator.....</b>	<b>50</b>
4.2.1 – Composição do substrato.....	50
4.2.2 – Suporte e imobilização do lodo anaeróbio .....	50
4.2.3 – Partida do reator .....	50
4.2.4 – Fases do experimento .....	52
4.2.5 – Procedimento de coleta e análise de amostras.....	52
4.2.5.1 – Metodologia para determinação de fenol.....	53
4.2.6 – Análise de biogás.....	54
4.2.7 – Exames microbiológicos do lodo .....	55
4.2.8 – Descrição do Reator Diferencial para avaliar a influência da velocidade superficial de líquido ( $V_s$ ) sobre a velocidade de consumo de substrato .....	55

4.2.9 – Inativação da biomassa imobilizada.....	57
4.2.10 – Avaliação da adsorção de fenol.....	58
4.2.10.1 – Adsorção no meio suporte.....	58
4.2.10.2 – Adsorção no lodo imobilizado .....	58
4.2.11 – Cinética de degradação do fenol no RAHLF .....	59
<b>5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>60</b>
<b>5.1 – Inoculação e manutenção do RAHLF em ausência de fenol.....</b>	<b>60</b>
<b>5.2 – Reinoculação e manutenção do RAHLF em ausência de fenol .....</b>	<b>61</b>
<b>5.3 – Início da adição de fenol ao reator .....</b>	<b>62</b>
<b>5.4 – Avaliação da degradação de fenol no RAHLF .....</b>	<b>62</b>
5.4.1 – Parâmetros físico-químicos analisados durante o período de adição de fenol .....	62
5.4.1.1 – pH, alcalinidade e temperatura.....	62
5.4.1.2 – Ácidos voláteis .....	69
5.4.1.3 – Demanda química de oxigênio – DQO .....	70
5.4.2 – Análise da composição de biogás presente no reator durante a adição de fenol ....	75
5.4.3 – Comportamento do RAHLF com relação às diferentes concentrações de fenol adicionadas .....	77
5.4.4 – Relações entre eficiências de remoção de DQO e taxas de carregamento orgânico .....	80
5.4.5 – Exames microbiológicos do lodo .....	82
<b>5.5 – Potencial de adsorção de fenol.....</b>	<b>84</b>
5.5.1 – No meio suporte .....	84
5.5.2 – No lodo imobilizado .....	87
<b>5.6 – Inativação da biomassa imobilizada .....</b>	<b>88</b>
<b>5.7- Estudos cinéticos em reator diferencial.....</b>	<b>94</b>
<b>5.8 – Avaliação da cinética de degradação de fenol no RAHLF.....</b>	<b>98</b>

5.8.1 – Variação da concentração de fenol ao longo do RAHLF.....	98
5.8.2 – Determinação da velocidade global de reação $R_{obs}$ .....	99
5.8.3 – Determinação da constante cinética aparente de primeira ordem.....	105
<b>6 – CONCLUSÕES.....</b>	<b>107</b>
<b>7 – RECOMENDAÇÕES.....</b>	<b>110</b>
7.1 – Sugestões operacionais.....	110
7.2 – Sugestões para estudos futuros.....	110
<b>ANEXO A.....</b>	<b>112</b>
<b>ANEXO B.....</b>	<b>119</b>
<b>ANEXO C.....</b>	<b>124</b>
<b>8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>126</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1- Fórmula estrutural do fenol. ....	6
FIGURA 3.2- Rota redutiva da degradação do fenol.....	13
FIGURA 3.3- Rota do ácido benzóico ou <i>p</i> -carboxilação do fenol.....	13
FIGURA 3.4- Seqüência da reação de conversão do fenol a benzoil-CoA/benzoato por um consórcio sintrófico degradando fenol.....	18
FIGURA 3.5- Comparação da relação entre a velocidade específica de crescimento $\mu$ , e a concentração de substrato, S, para as relações de Monod e de Haldane. os valores usados para efetuar os cálculos foram : $U_{MAX} = 0,20 \text{ h}^{-1}$ ; $K_S = 40 \text{ mg/L}$ ; $K_i = 90 \text{ mg/L}$ . (SILVA, 1995).....	37
FIGURA 3.6 – Diagrama de fluxo para análise de regressão linear (WEN <i>et al.</i> , 1994). ....	41
FIGURA 4.1 – Esquema de Reator Anaeróbico Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) em escala de bancada. ....	49
FIGURA 4.2 – Cromatograma mostrando os tempos de retenção do fenol e do 2 – clorofenol. ....	54
FIGURA 4.3 – Aparato experimental para avaliação da influência da velocidade superficial de líquido ( $V_s$ ) sobre a velocidade de consumo de substrato. (1) Reator diferencial; (2) Tanque agitado; (3) Banho de gelo; (4) Agitador magnético; (5) Amostrador; (6) trocador de calor; (7) Bomba .....	55
FIGURA 5.1 – Comportamento do pH efluente nas diferentes concentrações de fenol aplicadas no experimento. Fase I : 50,2 mg/L (a); Fase II : 102 mg/L (b); Fase	

III : 309 mg/L (c); Fase IV : 634 mg/L (d); Fase V : 906 mg/L (e); Fase VI : 1203 mg/L (f). .....	64
FIGURA 5.2 – Variações do pH máximo, mínimo e médio efluente com relação às concentrações de fenol estudadas.....	65
FIGURA 5.3 – Comportamento das concentrações de alcalinidade a bicarbonato efluente nas diferentes concentrações de fenol aplicadas no experimento. Fase I : 50,2 mg/L (a); Fase II : 102 mg/L (b); Fase III : 309 mg/L (c); Fase IV : 634 mg/L (d); Fase V : 906 mg/L (e); Fase VI : 1203 mg/L (f). .....	67
FIGURA 5.4 – Variações da alcalinidade a bicarbonato máxima, mínima e média efluente com relação às concentrações de fenol estudadas.....	68
FIGURA 5.5 – Cromatograma mostrando o tempo de retenção para ácidos voláteis. ....	70
FIGURA 5.6 - Variações da DQO máxima, mínima e média efluente com relação às concentrações de fenol estudadas.....	71
FIGURA 5.7 – Comportamento da Demanda Química de Oxigênio - DQO afluyente (●), DQO efluente (■) e remoção de DQO (▲) nas diferentes concentrações de fenol aplicadas no experimento. Fase I : 50,2 mg/L (a); Fase II : 102 mg/L (b); Fase III : 309 mg/L (c); Fase IV : 634 mg/L (d); Fase V : 906 mg/L (e); Fase VI : 1203 mg/L (f). .....	72
FIGURA 5.8 – Composição do biogás no reator - % de área de metano (●), % de área do dióxido de carbono (■). Fase de adaptação do inóculo (a); Fase IV : 634 mg/L (b); Fase V : 906 mg/L (c); Fase VI : 1203 mg/L (d).....	76
FIGURA 5.9 – Concentrações afluentes (■) e efluentes (●) de fenol durante a operação do RAHLF, quando submetido a diferentes concentrações desse composto. Fase I: 50,2 mg/L (a); Fase II: 102 mg/L (b); Fase III: 309 mg/L (c); Fase IV: 634 mg/L (d); Fase V: 906 mg/L (e); Fase VI: 1203 mg/L (f). .....	78
FIGURA 5.10 – Variação da eficiência de remoção da DQO (●) em função da taxa de carregamento orgânico (■) ao longo do tempo. ....	82

FIGURA 5.11 – Fotomicrografias em contraste de fase de bactérias e arqueas metanogênicas imobilizadas em espuma de poliuretano: (a) coco-bacilos, (b) vibrio, (c) Bactéria semelhante a <i>Thiotrix</i> .....	85
FIGURA 5.11 - Fotomicrografias em contraste de fase de bactérias e arqueas metanogênicas imobilizadas em espuma de poliuretano: (d) Cocos metanogênicos, (e) Arquea metanogênica semelhante a <i>Methanosaeta</i> , (f) vibrios, bacilos retos, bacilos com pontas afiladas. ....	86
FIGURA 5.12 -- Concentração de metano no reator alimentado com fenol e exposto a 40 minutos de inativação com UV.....	89
FIGURA 5.13 -- Concentração de metano no reator alimentado com fenol e exposto a 90 minutos de inativação com UV.....	90
FIGURA 5.14 - Concentração de metano no reator alimentado com acetato e exposto a 90 minutos de inativação com UV. ....	90
FIGURA 5.15 – Concentração de metano no reator alimentado com fenol sem exposição a inativação com UV - Controle. ....	91
FIGURA 5.16 – Concentração de metano no reator alimentado com acetato sem exposição a inativação com UV - Controle. ....	92
FIGURA 5.17 – Perfil experimental de massa de fenol na fase líquida em função do tempo. Concentração inicial de fenol = 103mg/L.....	95
FIGURA 5.18 – Perfil experimental de massa de fenol na fase líquida em função do tempo. Concentração inicial de fenol = 291 mg/L.....	96
FIGURA 5.19 – Perfil experimental de massa de fenol na fase líquida em função do tempo. Concentração inicial de fenol = 612 mg/L.....	96
FIGURA 5.20 – Perfil experimental da concentração de fenol na fase líquida em função de $r_{obs}$ . ....	97
FIGURA 5.21 – Variação da concentração de fenol ao longo do RAHLF. ....	98
FIGURA 5.22- Variação da velocidade específica global de reação ao longo do RAHLF – 90,5 mg/L.....	100

FIGURA 5.23 - Variação da velocidade específica global de reação ao longo do RAHLF – 318,65 mg/L.....	101
FIGURA 5.24 - Variação da velocidade específica global de reação ao longo do RAHLF – 624,14 mg/L.....	102
FIGURA 5.25 - Variação da velocidade específica global de reação ao longo do RAHLF – 927,66 mg/L.....	103
FIGURA 5.26 - Variação da velocidade específica global de reação ao longo do RAHLF – 1229,86 mg/L.....	104

## LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1– Fontes de produção de fenol e outros compostos aromáticos presentes nos efluentes dos diferentes processos industriais. ....	10
TABELA 3.2 – Compostos que produzem fenol como um intermediário durante a biodegradação anaeróbia em estudos com culturas mistas. ....	20
TABELA 3.3 – Reações envolvidas na conversão de benzoato em metano. ....	21
TABELA 3.4 – Características de algumas pesquisas sobre degradação de fenol por processo anaeróbio. ....	48
TABELA 4.1 – Composição da água residuária sintética. ....	51
TABELA 4.2– Fases experimentais. ....	52
TABELA 4.3 – Análises realizadas e frequência de coletas. ....	53
TABELA 5.1 – Análise estatística do comportamento do RAHLF com respeito ao pH (un) efluente. ....	63
TABELA 5.2 – Análise estatística do comportamento do RAHLF com respeito à alcalinidade a bicarbonato ( $\text{mg C}_a\text{CO}_3/\text{L}$ ) efluente. ....	65
TABELA 5.3 – Variação da relação AI/AP efluente para as concentrações de fenol estudadas. ....	69
TABELA 5.4 – Valores obtidos através de análise estatística do desempenho do RAHLF com respeito à DQO ( $\text{mg/L}$ ) efluente. ....	71
TABELA 5.5 – Eficiências de remoção de DQO e taxas de carregamento orgânico para as diferentes fases de operação do reator. ....	81

TABELA 5.6 – Resultados do teste de adsorção de fenol no meio suporte. ....	84
TABELA 5.7 – Resultados do ensaio de atividade metanogênica nos reatores alimentados com fenol, acetato e inativados com UV. ....	89
TABELA 5.8 – Resultados do ensaio de atividade metanogênica nos reatores controle alimentados com fenol e acetato. ....	91
TABELA 5.9 – Resultados das velocidades máxima e média de produção de metano nos reatores alimentados com fenol e acetato e expostos a UV. ....	93
TABELA 5.10 – Resultados das velocidades máxima e média de produção de metano nos reatores alimentados com fenol e acetato sem exposição a UV – Controle. ....	93
TABELA 5.11 – Perfis temporais médios de massa de fenol na fase líquida obtidos em reator diferencial para diferentes concentrações iniciais. ....	95
TABELA 5.12 – Valores das velocidades iniciais de utilização de substrato em função da concentração inicial de fenol aplicada ao reator diferencial. ....	97
TABELA 5.13 – Expressões ajustadas para os perfis das diferentes concentrações de fenol aplicadas ao RAHLF. ....	99
TABELA 5.14 – Valores de velocidade específica global de reação $R_{obs}$ em função da concentração de fenol ( $C_F$ ) ao longo do RAHLF – 90,5 mg/L. ....	100
TABELA 5.15 – Valores de velocidade específica global de reação $R_{obs}$ em função da concentração de fenol ( $C_F$ ) ao longo do RAHLF – 318,65 mg/L. ....	101
TABELA 5.16 – valores de velocidade específica global de reação $r_{obs}$ em função da concentração de fenol ( $C_F$ ) ao longo do RAHLF – 624,14 mg/l. ....	102
TABELA 5.17 – Valores de velocidade específica global de reação $R_{obs}$ em função da concentração de fenol ( $C_F$ ) ao longo do RAHLF – 927,66 mg/L. ....	103
TABELA 5.18 – Valores de velocidade específica global de reação $R_{obs}$ em função da concentração de fenol ( $C_F$ ) ao longo do RAHLF – 1229,86 mg/L. ....	104
TABELA 5.19 – Valores da constante cinética aparente de primeira ordem ( $K_I^{app}$ ). ....	105

## LISTA DE SIMBOLOS

AI/AP	relação entre alcalinidade a ácidos voláteis e alcalinidade a bicarbonato
$A_p$	área superficial da partícula, $[L^2]$
Bi	número de Biot
$C_F$	concentração de fenol, $[M].[L]^{-3}$
D	diâmetro do reator, $[L]$
$D_L$	difusão do substrato no meio líquido, $[L]^2.[T]^{-1}$
$D_e$	difusividade efetiva do substrato dentro da partícula, $[L]^2.[T]^{-1}$
$d_p$	diâmetro da partícula, $[L]$
$E_{COD}$	eficiência de remoção da demanda química de oxigênio, [%]
$LD_{50}$	dose de um composto químico que mata 50% de uma população em 96 horas
$K_1$	constante cinética intrínseca de primeira ordem, $[T^{-1}]$
$K_1^{app}$	constante cinética aparente de primeira ordem, $[T^{-1}]$
$K_i$	constante de inibição, usada para substratos inibitórios $[M.L^{-3}]$
$K_s$	constante de saturação, definida como a concentração de substrato limitante na que $\mu = 0,5\mu_{máx}$ , $[M.L^{-3}]$
$k_s$	coeficiente de transferência de massa na fase líquida, $[L].[T]^{-1}$
L	comprimento do reator, $[L]$
$M_F$	massa de fenol, $[M]$
m	velocidade específica de consumo de substrato para manutenção. $[T^{-1}]$
n	ordem de inibição
$pK_a$	constante de solubilidade a 25 °C ( $-\log K_a$ )
$R_{obs}$	velocidade global de reação, $[M].[L]^{-3}.[T]^{-1}$
$R_{obs}$	velocidade específica global de reação $[M].[M]^{-1} [T]^{-1}$
$R_{obs} _{t=0}$	velocidade inicial de utilização de substrato observada, $[M].[T]^{-1}$

$r_{\text{obs}} _{t=0}$	velocidade específica inicial de utilização de substrato observada, $[M].[M]^{-1} [T]^{-1}$
$R_p$	raio da partícula equivalente, [L]
$R_{\text{máx}}$	velocidade máxima de produção de metano, $[M].[L]^{-1}.[T]^{-1}$
$R_{\text{méd}}$	velocidade média de produção de metano, $[M].[L]^{-1}.[T]^{-1}$
$S$	concentração de substrato no meio, $[M.L^{-3}]$
$t$	tempo, [T]
$V_p$	volume de uma partícula, $[L]^3$
$V_s$	velocidade superficial de líquido, $[L].[T]^{-1}$
$X$	concentração de microrganismos, $[M.L^{-3}]$
$\bar{X}$	concentração média de microrganismos, $[M.L^{-3}]$
$Y$	coeficiente de produção celular, (adimensional)
$Y_g$	coeficiente de rendimento para crescimento, (adimensional)
$\varepsilon$	Porosidade do leito
$\phi$	módulo de Thiele
$\eta$	Fator de efetividade total
$\mu$	velocidade específica de crescimento de microrganismos, $[T^{-1}]$
$\mu_{\text{máx}}$	velocidade específica máxima de crescimento de microrganismos, $[T^{-1}]$
$\rho_L$	densidade do líquido, $[M].[L]^{-3}$
$\mu_L$	viscosidade do líquido, $[M].[L]^{-1}.[T]^{-1}$
$v_s$	velocidade superficial do líquido, $[L].[T]^{-1}$

**ABREVIATURAS**

ATP	Adenosina Trifosfato
AVT	Ácidos Voláteis Totais
BAS	Bactérias Acetogênicas Sintróficas
BRS	Bactérias Redutoras de Sulfato
BPM-A	Bactérias Produtoras de Metano, consumindo Acetato
BPM-H	Bactérias Produtoras de Metano, consumindo Hidrogênio
C:N:P	Relação Carbono:Nitrogênio:Fósforo
CG/FID	Cromatografia Gasosa com Detecção de Ionização de Chama
CG/MS	Cromatografia Gasosa com espectrometria de massa
CAG	Carvão Ativado Granular
CoA	Acetil-coenzima A
HAc	Ácido acético
DBO <sub>7</sub>	Demanda Bioquímica de Oxigênio aos 7 dias
DEB	Distribuição da Espessura do Biofilme.
DQO	Demanda Química de Oxigênio
MOC	Microscopia ótica comum
OH <sup>-</sup>	Grupo Hidroxila
PCBs	Bifenilas Policloradas
pH	Potencial Hidrogeniônico
RAI	Resina de Ânion Intercambiável
RCI	Resina de Cátion Intercambiável
RAHLF	Reator Anaeróbico Horizontal de Leito Fixo
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
STV	Sólidos Totais Voláteis

TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
UASB	Reator Anaeróbio de Manta de Lodo com fluxo Ascendente
UV	Ultravioleta

## RESUMO

BOLAÑOS, R. M. L. (2001). *Tratamento de fenol em reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) sob condições mesofílicas*. São Carlos, 2001, 135 p. Tese (Doutorado). Escola de engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

Um Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo foi operado a escala de laboratório, visando verificar sua capacidade de degradação de fenol. O RAHLF foi construído em vidro de borossilicato com 100 cm de comprimento e 5,04 cm de diâmetro, preenchido com lodo anaeróbio imobilizado em matrizes de espuma de poliuretano. Prévio à realização do experimento o reator foi operado com substrato sintético, contendo como fontes de carbono glicose, ácido acético e ácido fórmico, atingida a estabilização da matéria orgânica para uma carga orgânica de 1028 mg/L, correspondente a uma remoção de DQO de 98%, foi iniciada a adição de fenol começando com uma concentração de 50 mg/L como única fonte de carbono. A concentração de fenol adicionada variou de 50 a 1200 mg/L e sua degradação foi avaliada através de determinação cromatográfica, utilizando cromatografia gasosa e parâmetros físico-químicos como pH, ácidos voláteis, alcalinidade e DQO. O RAHLF foi operado com um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12,3 horas. Com 50 mg/L, após 33 dias o reator atingiu uma remoção de fenol de 97%. Com 100 mg/L e depois de 148 dias de operação não foi detectado fenol no efluente do reator. Com 300 mg/L e após 58 dias de operação o reator apresentou 99% de remoção e uma concentração no efluente de 0,85 mg/L. Com 600 mg/L, 900 mg/L e 1200 mg/L, após 47, 29 e 7 dias de operação o reator alcançou remoções de 99%. Em todas as concentrações foi observado o predomínio de *Methanosaeta*, *Methanobacterium* e cocos metanogênicos. Em relação à bactéria oxidadora de fenol foi observado o predomínio de coco-bacilos. As altas remoções de fenol observadas neste trabalho são devidas provavelmente à utilização de células imobilizadas.

Palavras-chave: processo anaeróbio; biorremediação; reator de filme fixo; fenol; tratamento de águas residuárias.

## ABSTRACT

BOLAÑOS, R. M. L. (2001). Phenol degradation in horizontal-flow anaerobic immobilized biomass (HAIB) reactor under mesophilic conditions. São Carlos, 2001, 135 p. Tese (Doutorado). Escola de engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

A bench-scale horizontal-flow anaerobic immobilized biomass (HAIB) reactor was assayed aiming to verify its potential use for phenol degradation. The HAIB reactor consisted of a bore-silicate tube (100 cm long; 5.04 cm diameter) filled with polyurethane foam matrices containing immobilized anaerobic sludge. Before being subjected to phenol, the reactor was fed with synthetic substrate at the influent chemical oxygen demand (COD) of 1,028 mg.l<sup>-1</sup> achieving 98% of COD removal efficiency. Thereafter, phenol as the sole carbon source was added under step-increasing concentrations from 50 to 1,200 mg.l<sup>-1</sup>. Phenol degradation was evaluated by gas chromatographic analysis of influent and effluent samples. Process monitoring included determinations of pH, volatile acids, alkalinity and COD. The HAIB reactor was operated at a constant hydraulic detention time (HDT) of 12.3 hours. After 33 days with 50 mg/l of phenol in the influent, the reactor achieved 97% of phenol removal efficiency. Successful phenol degradation (efficiency removal of 99%) occurred for influent concentrations of 100, 300, 600, 900 and 1,200 mg.l<sup>-1</sup> after 148, 58, 47, 29 and 7 days, respectively. The predominance of *Methanosaeta*, *Methanobacterium* and methanogenic cocci could be observed in all the operating conditions, besides the presence of phenol-oxidizing microorganisms as irregular rods. The results indicate that phenol degradation at very high rates can be accomplished in HAIB reactors containing acclimatized biomass.

Keywords: anaerobic process; bioremediation; fixed-bed reactor; HAIB reactor; phenol; wastewater treatment

## 1 - INTRODUÇÃO

O avanço tecnológico das atividades industriais, agrícolas e domésticas, tem levado a sínteses de novos compostos orgânicos, que são introduzidos continuamente e em grande quantidade no meio ambiente, provocando desequilíbrios ecológicos que geram modificações físicas, químicas e biológicas. Isso tem aumentado a preocupação com o meio ambiente, levando ao desenvolvimento de métodos efetivos, economicamente viáveis, de fácil operação e manutenção, para tratamento de águas residuárias industriais e domésticas (METCALF & EDDY, 1991), demonstrado pelo avanço nos estudos de processos biológicos e no desenvolvimento da biotecnologia (BAE, *et al.*, 1995).

Meio ambiente e energia são duas das importantes preocupações da sociedade moderna. A rápida industrialização, apesar de seus benefícios, tem resultado na geração de resíduos perigosos que podem ser cumulativos no meio ambiente.

As indústrias química e petroquímica produzem grande variedade de resíduos orgânicos altamente tóxicos, freqüentemente resistentes à biodegradação natural, persistindo no meio ambiente. Compostos aromáticos são tóxicos orgânicos comumente presentes nos efluentes industriais (SATSANGEE & GHOSH, 1990).

Os compostos fenólicos são considerados entre os resíduos orgânicos de maior potencial poluidor, devido às suas característica ácida, tóxica e bactericida, e exigem tratamento antes de seu lançamento em corpos receptores.

Os fenóis são compostos que formam a estrutura básica de uma grande variedade de produtos orgânicos sintéticos e estão presentes nos efluentes líquidos oriundos de processos de indústrias petroquímicas, de mineração, de explosivos, de corantes sintéticos, de conservantes de madeira, assim como na manufatura de produtos em fibra de vidro, produtos químicos e agrícolas (BOYD *et al.*, 1983). São introduzidos no meio ambiente como produtos sintéticos e naturais. Os sintéticos

originam-se da transformação da hulha em coque, de refinarias de óleos, de indústrias de pesticidas, indústrias químicas e farmacêuticas, manufaturas de madeiras e corantes, esgotos de hospitais e de clínicas. Os fenóis de origem natural são formados a partir da decomposição da vegetação aquática e terrestre e liberados no meio ambiente (COSTA, 1994).

As águas naturais são contaminadas por vários pesticidas e seus produtos de transformação. Herbicidas e nematicidas são contaminantes potenciais das águas naturais, por serem lançados diretamente no solo e transportados pelas águas superficiais e/ou subterrâneas. Os inseticidas chegam às águas subterrâneas através da lavagem de plantas e/ou solo, pela infiltração e precipitação (HATRICK & TEKEL', 1996).

A importância do melhoramento e preservação da qualidade da água é uma preocupação constante. A intensificação da produção agrícola e o cultivo de alimentos para a nutrição humana requerem regulamentos para o uso de pesticidas (HATRICK & TEKEL', 1996).

O fenol também tem sido introduzido no meio ambiente, incluindo os solos, através da aplicação de pesticidas, descargas acidentais ou descargas não intencionadas associadas a processos industriais e disposição de resíduos (XING *et al.*, 1994).

Em concentrações relativamente baixas (5 a 25 mg/L), os fenóis são tóxicos ou letais a peixes e mesmo em concentrações muito baixas, provocam sabores indesejáveis à água potável, principalmente após a cloração (SILVA, 1995).

O limite permissível de fenol em efluentes industriais é de 1,0 mg/L, já que níveis maiores afetam a vida aquática, ocasionando desequilíbrio ecológico no corpo receptor (SATSANGEE & GHOSH, 1990).

No Brasil, a partir de janeiro de 1992, entrou em vigor a Portaria nº 36/GM de 19/01/1990 do Ministério da Saúde, intitulada "Normas e Padrões de Potabilidade das Águas Destinadas ao Consumo Humano" (Ministério da Saúde, 1990), onde se classifica o fenol com uma substância que confere odor à água potável, portanto, a norma estabelece limite máximo permitido de fenol na água potável de 0,1 µg/L.

BRAILE & CAVALCANTI (1979) recomendam que, em cursos de água, as concentrações de fenol sejam inferiores a 1,0 µg/L.

Na modelação de estudos de reservatórios de águas poluídas foi verificado que concentrações de 500,0 mg/L de fenol permitiram crescimento intenso e homogêneo de bactérias. O fenol é tóxico ao homem na concentração de 13,0 mg/kg corporal e 10,0 gramas no organismo é fatal. Após penetrar no organismo, a maior parte do fenol é transformada antes de sua eliminação. O principal produto é o ácido fenilsulfúrico ( $C_6H_5.O.SO_3H$ ), eliminado através da urina na forma de fenilsulfatos alcalinos, além de pirocatecol e hidroquinona. Essa transformação se efetua principalmente no fígado. A urina atinge, então, um tom escuro e pode tornar-se negra. O fenol é volátil e a concentração máxima tolerada no ar é de 5,0 mg/L ou 19,0 mg/m<sup>3</sup> (COSTA, 1994).

Dentre as alternativas técnicas de tratamento de fenol, os processos biológicos oferecem custos relativamente baixos, quando comparados aos processos físico-químicos (METCALFY & EDDY, 1991). Outra vantagem dos processos de tratamento biológico é seu potencial para a completa mineralização ou para a redução da toxicidade, se o sistema for projetado cuidadosamente e operado corretamente, para evitar formação de poluentes secundários (BAE, *et al.*, 1995).

Dentre os processos de tratamento biológicos de resíduos orgânicos, a digestão anaeróbia, cresceu em importância nos últimos anos, por apresentar balanço energético favorável quando comparado aos processos aeróbios convencionais. Suas vantagens englobam: baixo consumo de energia, por não exigir a introdução de oxigênio no meio; baixa produção de lodo (20% menor com relação aos processos aeróbios); possibilidade de recuperação e utilização do gás metano como combustível.

Embora o processo anaeróbio seja sensível a mudanças das condições ambientais, incluindo a presença de compostos tóxicos, características positivas da biotecnologia anaeróbia tem sido demonstradas na biotransformação de poluentes orgânicos a metano. O processo anaeróbio tem sido amplamente utilizado no tratamento de resíduos orgânicos urbanos, rurais e industriais, e na degradação de resíduos orgânicos tóxicos, (SOUZA, 1982).

O tratamento anaeróbio de compostos fenólicos tem sido proposto por vários autores e, com reatores em escala piloto, resultados satisfatórios têm sido obtidos, com alta eficiência de remoção de fenóis (COSTA, 1994). A biodegradação

anaeróbia de fenol foi confirmada em reatores em batelada, anaeróbios de fluxo ascendente (UASB), preenchidos com carvão ativado granular (CAG) e filtros anaeróbios.

Diferentes tipos de reatores anaeróbios têm sido operados sob condições mesofílicas, uma vez que as temperaturas típicas tropicais e subtropicais facilitam a fermentação anaeróbia metanogênica. No entanto, vários trabalhos de pesquisa têm demonstrado o enorme potencial da degradação anaeróbia termófila (VAZOLLER, 1995).

O tratamento anaeróbio de águas residuárias, com reatores biológicos de filme fixo, oferece vantagens como: tempo de retenção celular elevado, proteção das bactérias de materiais inibitórios e condições favoráveis para rápida adaptação, crescimento e retenção de biomassa (HANAKI *et al.*, 1994), suportando assim, condições ambientais adversas ao processo.

Reatores anaeróbios de biomassa imobilizada têm sido amplamente pesquisados para tratamento de águas residuárias contendo compostos tóxicos, por favorecerem a retenção e crescimento de células, minimizando ou eliminando possíveis inibições do processo.

Estudos de degradação anaeróbia de compostos tóxicos, em reatores com biomassa imobilizada são importantes, pois este tipo de crescimento aderido é a forma predominante da biomassa microbiana em solos e aquíferos.

O Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos – USP vem desenvolvendo pesquisas no campo de tratamento anaeróbio, incluindo trabalhos com Reatores Horizontais de Leito Fixo (RAHLF) operados com espuma de poliuretano como suporte para desenvolvimento microbiano, e alimentados com substratos contendo compostos tóxicos (ZAIAT *et al.*, 1996).

Este trabalho tem como objetivos principais avaliar o desempenho do RAHLF, que utiliza espuma de poliuretano como suporte de imobilização da biomassa anaeróbia, quando submetido a incrementos seqüenciais da concentração de fenol afluyente, visando o uso potencial desse reator no tratamento de águas residuárias contendo esse tipo de composto. Pretende-se também, alcançar um melhor entendimento desse tipo de biotecnologia e assim possibilitar a aplicação das técnicas da Biorremediação na minimização dos problemas ambientais.

## 2 – OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é avaliar o tratamento biológico anaeróbio de substrato sintético contendo fenol, sob condições mesofílicas, em um Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) inoculado com lodo granulado proveniente de um reator de fluxo ascendente, UASB, de uma indústria de reciclagem de papel.

Pretende-se atingir os seguintes objetivos específicos:

- a) Avaliar o desempenho de um Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo que utiliza espuma de poliuretano como suporte de imobilização da biomassa anaeróbia, alimentado com substrato sintético contendo glicose, ácido acético e ácido fórmico como fontes de carbono iniciais e após condição operacional estável, fenol como única fonte de carbono, tentando assim, enquadrar o trabalho na área da Biorremediação;
- b) Avaliar o potencial de adsorção de fenol nas matrizes de espuma de poliuretano;
- c) Avaliação da cinética de degradação de fenol.

### 3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 - Composição e estrutura química dos compostos fenólicos

Para que um composto seja classificado como fenol, suas moléculas devem ter pelo menos um grupo OH unido diretamente ao anel aromático (HOLUM, 1994). Os mais comuns são hidroxibenzeno (fenol ou ácido fênico), difenóis, catecóis, cresóis e naftol.

O fenol também é conhecido como ácido carbólico, ácido fênico, ácido fenílico, hidróxido fenil, hidroxibenzeno, oxibenzeno (THE MERCK INDEX, 1996). Em geral são sólidos, pouco solúveis em água, de cheiro forte característico. São tóxicos e têm ação cáustica sobre a pele. Apresentam caráter ácido, existindo, na natureza, na forma de essências, em estruturas complexas. Os fenóis mais simples são produzidos em escala industrial. O fenol é um ácido fraco, com  $K_a = 1,0 \times 10^{-10}$  (25 °C), é mais fraco que o ácido acético, no entanto é um ácido suficientemente forte para neutralizar grupamentos  $\text{OH}^-$  (HOLUM, 1994).

Algumas propriedades físicas e químicas do fenol são listadas a seguir:

a) Fórmula estrutural

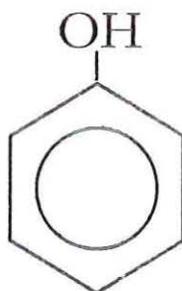


FIGURA 3.1- Fórmula estrutural do fenol.

- b) Fórmula molecular :  $C_6H_6O$ ;
- c) Massa molecular : 94,11 (C : 76,57% ; H : 6,43% ; O : 17,0%);
- d) Densidade :  $1,071 \text{ g/cm}^3$ ;
- e) Constante de solubilidade a  $25^\circ\text{C}$ ,  $pK_a$  : 10,0;
- f) Forma física : cristais incolores, com odor fenólico;
- g) Livre de água e cresóis, solidifica-se a  $41^\circ\text{C}$  e funde a  $43^\circ\text{C}$ ;
- h) pH da solução aquosa : 6,0;
- i) É solubilizado por mistura com 8% de água;
- j) Um grama de fenol dissolve-se em 15,0 mL de água e 12,0 mL de benzeno;
- k) Solúvel em : álcool, clorofôrmio, éter, glicerol, dissulfeto de carbono, vaselina, óleos voláteis e fixos e hidróxidos aquosos;
- l) Quase insolúvel em éter de petróleo;
- m) Toxicidade em mamíferos:  $LD_{50}$  (dose de um determinado composto químico que mata 50% de uma população em 96 horas), para ratos : 530,0 mg/kg (THE MERCK INDEX,1996).

### 3.2 – Águas residuárias geradas pelo uso industrial de compostos fenólicos

O aumento da produção na indústria da suinocultura tem aumentado os problemas ambientais, particularmente no que diz respeito à geração de odores ofensivos. Os compostos fenólicos são constituintes importantes do odor desagradável exalado por dejetos de suínos. Esses compostos resultam do metabolismo anaeróbio das proteínas e são produzidos na região intestinal dos suínos e no local de armazenamento do estrume de suíno que é mantido sob condições anaeróbias (BEAUDET, *et al.*, 1986).

Os fenóis e outros compostos fenólicos são constituintes comuns das águas residuárias geradas na indústria de conversão do carvão, nos processos de gaseificação e liquefação do carvão. Esses compostos também têm sido utilizados como fontes de carbono e energia na desnitrificação dos efluentes provenientes do processo de combustão do carvão (FEDORAK & HRUDEY, 1986).

O óleo obtido de sedimentos rochosos é um dos recursos naturais mais importantes da Estônia, usado amplamente na indústria química e na produção da

energia. Os sub-produtos sólidos formados no processamento desse óleo são colocados em um depósito de cinzas, que é compactado com águas de drenagem e do processo industrial (100 – 200 m<sup>3</sup>/dia) e expostos à precipitação natural. As águas dessa drenagem (3000 a 8000 m<sup>3</sup>/dia), contendo vários compostos orgânicos derivados do fenol (fenóis metilados, pirogalol, catecóis, resorcinóis metilados), comuns nas águas residuárias da conversão do carvão, (KETTUNEN, *et al.*, 1996) são descarregadas, sem tratamento no mar Báltico.

O fenol, é um poluente orgânico freqüentemente encontrado em águas residuárias de indústrias, matéria prima para a produção comercial de uma ampla variedade de resinas, como as fenólicas (materiais de construção para automóveis e eletrodomésticos) as epóxicas (adesivos, policarbonatos para a fabricação de recipientes para refrigerantes) e as poliamidas (utilizadas em várias aplicações) (FANG *et al.*, 1996).

Entre os sub-produtos da indústria do açúcar, encontra-se o melaço, resíduo obtido após a sacarose ter sido cristalizada. O melaço contém aproximadamente 50% de açúcares fermentáveis, sendo freqüentemente utilizado como substrato nos processos de fermentação. O melaço é utilizado na produção de uma variedade de produtos químicos, dentre os quais, o etanol. A indústria do álcool utiliza melaço para produzir etanol, através de fermentação por leveduras. O álcool obtido deve ser removido do caldo de fermentação, normalmente por destilação, gerando um resíduo conhecido como vinhaça. Levando-se em consideração que a fermentação alcoólica é usualmente facilitada por concentrações baixas de açúcar (12% – 20%), a quantidade de vinhaça produzida pode ser até 10 vezes maior que a concentração do etanol. Processos biológicos (aeróbio e anaeróbio) são normalmente utilizados no tratamento da vinhaça. Características da digestão anaeróbia, tornam-na um processo adequado para o tratamento desse tipo de despejo. No entanto, sua eficiência é diminuída pela presença de compostos fenólicos. Entre os materiais orgânicos presentes na vinhaça encontram-se cerca de 10 compostos fenólicos e seus polímeros, conhecidos pela difícil degradação biológica e pelas suas propriedades antimicrobianas e fitotóxicas, que retardam a degradação anaeróbia (GARCIA *et al.*, 1997). No Brasil, o tratamento de vinhaça utilizando processos biológicos não é muito utilizado, sendo mais freqüente a aplicação desse resíduo no solo.

Fenol e uma grande variedade de compostos fenólicos são produzidos pela indústria química para serem utilizados como pesticidas, inseticidas, herbicidas, detergentes, solventes e preservativos da madeira (KNOLL & WINTER, 1989).

Compostos aromáticos de origem biológica são derivados do metabolismo secundário das plantas, das clivagens biológica e química da lignina e da conversão de aminoácidos aromáticos (KNOLL & WINTER, 1989).

A contaminação de solos e água subterrânea, ocorre com frequência, devido ao lançamento de produtos orgânicos derivados industrialmente. Utilizam-se métodos convencionais como lavagem da sub-superfície para dissolver os contaminantes, que então podem ser bombeados à superfície para posterior tratamento.

Esses métodos, são geralmente ineficientes, lentos e envolvem processos físico-químicos (flotação, extração e queima) e disposição em depósitos e aterros de uma parte considerável dos dejetos, contendo contaminantes incompletamente mineralizados.

Na Tabela 3.1 são apresentadas algumas fontes de produção de fenol e outros compostos aromáticos presentes nas águas residuárias dos diferentes processos industriais (KUMARAN & PARUCHURI, 1997).

### **3.3 – Origem e uso doméstico de compostos fenólicos**

Nos seres humanos, os fenóis podem ser detectados na urina e fezes, sendo a renal, a maior rota de excreção. Fenol, benzeno e outros compostos aromáticos são encontrados no intestino por ingestão acidental ou pelo metabolismo de resíduos alimentares por bactérias que produzem aminoácidos aromáticos, então, transformado-os em fenóis (BIRKETT, *et al.*, 1995).

Os fenóis estão presentes nos esgotos domésticos, provenientes, principalmente, do uso de germicidas e desinfetantes (BOYD *et al.*, 1983).

### **3.4 – Biodegradação anaeróbia e remoção de fenol**

Atualmente, a digestão anaeróbia é um dos principais processos utilizados no tratamento biológico de águas residuárias. Esse processo vem crescendo em

importância no campo do tratamento de águas residuárias por apresentar alta eficiência e capacidade de produção de metano (LIN *et al.*, 1986).

**TABELA 3.1– Fontes de produção de fenol e outros compostos aromáticos presentes nos efluentes dos diferentes processos industriais.**

Fonte	Compostos fenólicos significantes
Refinaria de petróleo	Hidrocarbonetos (alcanos, cicloalcanos, hidrocarbonetos poliaromáticos), benzenos, benzenos substituídos, toluenos, n-octanos, n-decanos, naftalenos, bifenis, fenol, cianeto, sulfeto e amônia
Petroquímicas	Naftaleno, heptanos, benzenos, butadieno, álcoois C <sub>4</sub> , fenol e resorcinol
Indústria química orgânica básica	m-aminofenol, resorcinol, dinitrofenol, p-nitrofenol, trinitrofenol, ácidos benzeno-sulfônicos, anilina clorobenzenos, tolueno e resorcinol.
Refinaria do carvão	Fenol, catecol, o-, m-, p-cresóis, resorcinol, hidroquinona, pirogalol, hidrocarbonetos poliaromáticos, piridinas, picolínas, lutidinas, xilenos, toluenos, ácido benzóico.
Indústrias Farmacêuticas	Toluenos, álcoois benzil, ácido fenil acético, produtos clorados do benzeno, clorofórmio, éter, álcool etílico.
Indústria de curtume	Taninos, catequina, fenol, clorofenol, nitrofenóis.
Indústria de polpa e papel	Lignina, vanilina, ácido vanílico, dehidrodivanilina, ácido ferúlico, ácido cinâmico, ácido sinríntrico, ácido vierátrico, ácido protocatecólico, ácido gentísico, ácido benzóico, guaiacois, catecol, álcool coniferil, álcool dehidrodihidroconiferil, ácido fenil propiônico, fenóis e clorofenóis.

Fonte : KUMARAN & PARUCHURI, 1997.

Os ácidos voláteis formados como compostos intermediários são oxidados por  $\beta$  - oxidação a hidrogênio, dióxido de carbono e acetato, por processos chamados dehidrogenação e acetogênese, respectivamente (OZTURK, 1991), realizados pelas bactérias produtoras de hidrogênio (SPEECE, 1996). A última fase é a

metanogênese, realizada pelas arqueas metanogênicas, responsáveis pela formação de metano a partir de  $H_2$ ,  $CO_2$  e acetato (SPEECE, 1996).

A digestão anaeróbia de esgoto doméstico é um método comum de tratamento. Portanto, um entendimento do potencial para a biodegradação anaeróbia de compostos orgânicos poluentes, durante a digestão do lodo, é de grande importância, quer para estabelecer normas razoáveis para descargas industriais aceitáveis em estações de tratamento de águas residuárias, ou para desenvolver métodos seguros e econômicos para o manejo do lodo, como a aplicação no solo. Poluentes prioritários chegam às estações de tratamento de águas residuárias como resultado de contribuições industriais e residenciais e apresentam um destino que, em grande parte, é desconhecido. Levando-se em consideração que muitos compostos orgânicos têm solubilidade limitada na água e que podem ser facilmente sorvidos por superfícies orgânicas, e sendo o lodo de esgoto constituído principalmente por matéria orgânica particulada, parece razoável admitir ser esse, o destino final de uma porção significativa de poluentes orgânicos presentes nas estações de tratamento de águas residuárias (BOYD *et al.*, 1983).

Os compostos aromáticos podem ser degradados por diferentes processos anaeróbios, como: fotometabolismo, metabolismo dependente do nitrato, em ambientes redutores de sulfato e sob condições metanogênicas (KNOLL & WINTER, 1987). Estudos têm demonstrado que a degradação anaeróbia de fenol é possível em ambientes redutores de sulfato e sob condições metanogênicas.

Numerosos estudos têm sido realizados sob condições metanogênicas e pouco tem-se pesquisado sobre outras alternativas de aceptores de elétrons em condições anaeróbias, como óxidos de enxofre, óxidos de nitrogênio e compostos orgânicos com um substituinte eletronegativo que pode ser acoplado à oxidação do anel aromático (O'CONNOR & YOUNG, 1996).

O destino ambiental dos poluentes orgânicos depende de uma variedade de fatores físicos químicos e bioquímicos, incluindo : estrutura química (aromático ou alifático, natureza do grupo funcional, etc.), características da sorção, volatilidade, caráter iônico, solubilidade e disponibilidade de aceptores terminais de elétrons. Em ambientes anaeróbios, o aceptor de elétrons predominante pode ter influência sobre : o consórcio biológico selecionado, a termodinâmica de uma reação particular e o

potencial redox. Todos esses fatores podem afetar a biodegradabilidade, a toxicidade e a cinética do metabolismo de um composto químico, em ambiente anaeróbio. Por exemplo, foi observado que isômeros de monoclora e mononitrofenol foram removidos ou biotransformados sob condições metanogênicas; isômeros do clorobenzoato foram metabolizados sob condições desnitrificantes, enquanto que isômeros do monoclorofenol não foram metabolizados (O'CONNOR & YOUNG, 1996).

De acordo com WILLIAMS<sup>1</sup> *et al.*, apud BEAUDET *et al.*, (1986), a degradação dos compostos fenólicos presentes no efluente da indústria da suinocultura e a redução dos odores ofensivos pode ser realizada por bactérias aeróbias durante a aeração mecânica dos dejetos de suínos. No entanto, esse tratamento exige equipamento especializado e alto consumo de energia, envolvendo altos custos de operação. Segundo os autores, esses compostos têm demonstrado ser de fácil biodegradação sob condições anaeróbias realizadas por diferentes culturas bacterianas, cujas espécies, e suas diferentes interações, ainda não são bem conhecidas.

A degradação de fenol por consórcios de arqueas metanogênicas, tem sido estudada por vários pesquisadores (LÉPINE *et al.*, 1996; BÉCHARD *et al.*, 1990; BISAILLON *et al.*, 1991). Esses autores utilizaram o consórcio metanogênico isolado por BEAUDET *et al.*, (1986) de uma mistura de água de pântano com sedimento vegetal em condições anaeróbias, lodo ativado, esgoto de suínos e amostra de solo. Essa cultura foi enriquecida por transferências periódicas em meio de sais minerais, contendo fenol ou *p*-cresol com única fonte de carbono.

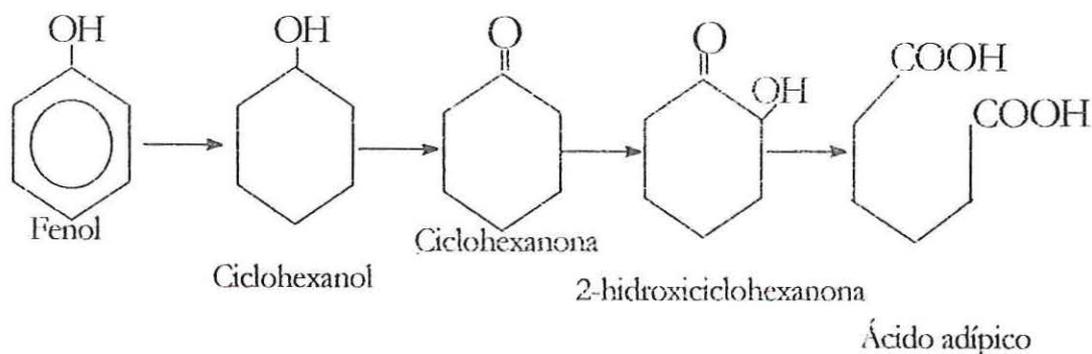
#### 3.4.1 – Metabolismo anaeróbio do fenol

Segundo LONDRY & FEDORAK (1992), a degradação anaeróbia do fenol tem sido mostrada como ocorrendo através de duas rotas distintas:

---

<sup>1</sup> WILLIAMS, A. G. (1984). indicators of piggery slurry odour offensiveness. *Agricultural wastes*. 10 : 15-36.

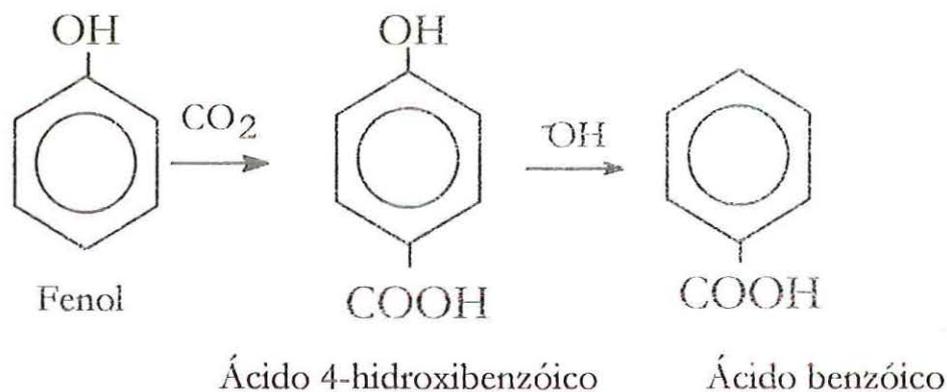
- A rota redutiva, na qual o anel aromático é reduzido, produzindo ciclohexanona como intermediário no metabolismo do fenol, antes da quebra do anel. A Figura 3.2 apresenta a degradação do fenol através da rota redutiva.



**FIGURA 3.2– Rota redutiva da degradação do fenol.**

Fonte : LONDRY & FEDORAK, 1992.

- A rota do ácido benzóico, na qual a *p*-carboxilação do fenol tem sido mostrada como ocorrendo sob condições metanogênicas, como mostrado na Figura 3.3.



**FIGURA 3.3– Rota do ácido benzóico ou *p*-carboxilação do fenol.**

Fonte : LONDRY & FEDORAK, 1992.

A maioria das publicações recentes descrevem o ácido benzóico como intermediário na degradação de fenol; poucos autores encontraram a ciclohexanona como metabólito. As condições ambientais e os consórcios que governam o metabolismo anaeróbio do fenol através da rota redutiva, ainda não totalmente

esclarecida, sugerem que a rota do ácido benzóico seja a que acontece com mais frequência (apresentada na Figura 3.3).

KNOLL & WINTER (1987) selecionaram um consórcio anaeróbico, de um digestor tratando lodo de esgoto, alimentado com esgotos primário e secundário, numa proporção de 1:1, obtido de uma estação de tratamento. Esse lodo foi fermentado anaerobiamente, a 37°C e TDH de 20 dias, em reator com volume útil de 1,5 L. Diariamente, o lodo digerido era substituído por lodo fresco, para manter o TRH. Após atingir estabilidade na operação do reator, diariamente foram adicionados 200 mg/L de fenol, para selecionar os microrganismos degradadores desse composto. Os autores concluíram que o consórcio degradou fenol, e verificaram que a taxa de degradação a benzoato foi reduzida de 6 a 4 mmol/L.d, na presença de atmosfera gasosa de H<sub>2</sub> : CO<sub>2</sub> de 80 para 20. O acetato não se acumulou de forma significativa e, posteriormente, H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> foram transformados em metano. Sob atmosfera de N<sub>2</sub> : CO<sub>2</sub>, o benzoato acumulado foi degradado a metano e CO<sub>2</sub>. Após aumento da concentração de acetato no lodo de esgoto, a taxa de degradação de fenol foi reduzida, e a concentração de benzoato aumentou, indicando que o benzoato é um intermediário na degradação de fenol, que existem rotas alternativas de degradação ou que uma cultura pura poderia, teoricamente, carboxilar o fenol.

KNOLL & WINTER, (1987) e BÉCHARD et al., (1990), utilizando espectrômetro de massas, mostraram que o benzoato foi formado a partir de fenol, sob condições metanogênicas, pelo consórcio de microrganismos utilizado por BEAUDET et al., (1986), cuja composição já foi descrita. Esses autores também demonstraram que a inibição da metanogênese não influenciou na carboxilação do fenol, já que taxas similares de transformação do fenol, pelo consórcio, foram obtidas na presença ou ausência do inibidor da metanogênese.

KNOLL & WINTER (1989) selecionaram uma cultura sintrófica obrigatória, em um meio mineral contendo fenol como única fonte de carbono e de energia, e verificaram que o ácido *p*-hidroxibenzóico, (um intermediário da degradação anaeróbica de fenol por *Pseudomonas* sp., que reduz nitrato), não foi encontrado durante a degradação de fenol pela cultura mista. Quando o ácido *p*-hidroxibenzóico foi adicionado à cultura mista, crescendo em meio fenólico, o fenol foi o primeiro produto da transformação, tendo sido descarboxilado o ácido *p*-hidroxibenzóico e,

posteriormente, carboxilado a benzoato, que foi degradado a acetato. Nesse estudo, foi verificada a sintrofia obrigatória entre bactérias que carboxilam fenol, bactérias que degradam benzoato e bactérias que produzem metano.

KOBAYASHI<sup>2</sup> *et al.*, apud FANG *et al.*, (1996) propuseram uma rota de degradação de fenol, sob condições anaeróbias, através da qual o fenol é inicialmente convertido a benzoato, que é transformado em ácido carboxílico ciclohexano, sendo, posteriormente, quebrado para formar heptanato. O heptanato continua sendo degradado, seja por  $\beta$  - oxidação para formar valeriato, propionato e acetato, ou diretamente, para formar propionato e butirato, que, posteriormente, podem ser oxidados a acetato.

Em estudos de degradação de fenol, têm-se observado presença abundante de bactérias que degradam benzoato, validando a proposta de que o fenol é inicialmente convertido a benzoato ( FANG *et al.*, 1996).

O lodo de esgoto parece conter um número razoável de microrganismos que degradam benzoato, sendo que, em lodo de esgoto fresco, a degradação de benzoato acontece quase que imediatamente, enquanto que a degradação de fenol acontece só após uma fase lag de 3 a 10 dias (KNOLL & WINTER, 1987).

Segundo BEAUDET *et al.*, (1986), foi isolado um consórcio metanogênico capaz de degradar fenol em concentrações superiores a 1,0 g/L, e transformar uma variedade de compostos fenólicos com grupos funcionais que podem ser substituídos em sua posição *orto*. Esse consórcio apresentou alta eficiência no tratamento de águas residuárias provenientes de uma refinaria de petróleo, com alto conteúdo de compostos fenólicos. O consórcio metanogênico foi isolado de uma mistura de lodos provenientes de água de pântano, lodo de esgoto, dejetos de suínos e solo.

LÉPINE *et al.*, (1996) estudaram, em reatores em batelada, a transformação metabólica de fenol pelo consórcio metanogênico isolado por BEAUDET *et al.*, (1986), obtendo, como produto final, a fenilalanina e ácidos benzóico e 3-fenilpropiónico, como intermediários. A conversão do ácido benzóico em um aminoácido foi interessante, já que esse consórcio demonstrou ser dependente de aminoácidos ou de proteose peptona como nutriente no co-metabolismo do fenol.

---

<sup>2</sup> KOBAYASHI, T. ; HASHINAGA, T.; MIKAMI, E. ; SUZUKI, T. (1989). Methanogenic degradation of phenol and benzoate in acclimated sludges. *Water Science Technology*. 21: 55 – 65.

Para o consórcio metanogênico citado anteriormente, o primeiro passo na transformação do fenol decorreu do mecanismo de carboxilação que produziu ácido *p* – hidroxibenzoico, seguido do mecanismo de hidroxilação que formou ácido benzoico, um intermediário na degradação de fenol. Sob condições metanogênicas, a rota de degradação do ácido benzoico, geralmente encontrada na literatura, é a redução e clivagem do anel aromático, para produção de ácidos graxos de cadeia média de seis carbonos, que, posteriormente, são degradados a ácido acético e, finalmente, a CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> (LÉPINE *et al.*, 1996).

Segundo BISAILLON *et al.* (1991), os resultados obtidos com os possíveis intermediários da degradação do benzoato, adicionados como substrato ao consórcio anaeróbio estudado, sugerem que, na rota de degradação, o benzoato é transformado a 1-ciclohexano carboxilato e a heptanato, sendo que parte do 1-ciclohexano foi transformada a um produto final identificado, aparentemente, como ciclohexano carboxilato, como observaram KOBAYASHI *et al.*, (Apud FANG *et al.*, 1996).

KOBAYASHI<sup>3</sup> apud BÉCHARD *et al.*, (1990), observaram que, na presença de H<sub>2</sub>, mesmo em altas concentrações, ocorreu a carboxilação de fenol ou o acúmulo de benzoato. Sabendo-se que a carboxilação redutiva do propionato a butirato é uma reação altamente favorável, sob pressão parcial de hidrogênio não tão baixa, pode-se pensar que os microrganismos carboxilantes não são sintróficos, sendo a carboxilação do fenol realizada por co-metabolismo.

SHARAK GENTHNER *et al.*, (1991) utilizaram um consórcio anaeróbio que degradou fenol a benzoato, com subsequente mineralização a CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>. Em uma inoculação feita a partir de uma subcultura do consórcio, observaram que o fenol foi degradado a benzoato, mas este não foi degradado a CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>. Em ambos os experimentos, ocorreu *p*-carboxilação do fenol, ou seja, formação de *p*-hidroxibenzoato como intermediário da transformação, sendo degradado completamente. Posteriormente, no consórcio original, o fenol foi o único composto detectado durante a degradação de *p*-hidroxibenzoato. Portanto, os autores concluíram que o consórcio original degradou o fenol formado, a partir da

---

<sup>3</sup> KOBAYASHI, T. ; HASHINAGA, T.; MIKAMI, E. ; SUZUKI, T. (1989). Methanogenic degradation of phenol and benzoate in acclimated sludges. *Water Science Technology*. 21: 55 – 65.

decarboxilação do *p*-hidroxibenzoato, enquanto que na subcultura, foi transformado a benzoato.

A formação de fenol a partir de *p*-hidroxibenzoato não foi surpresa, porque a rápida decarboxilação do *p*-hidroxibenzoato já tinha sido observada em consórcios metanogênicos não definidos (SHARAK GENTHNER, *et al.*, 1991).

Com outros consórcios anaeróbios degradando fenol, têm-se observado a degradação de *p*-hidroxibenzoato, com formação transitória de fenol e benzoato. No entanto, os autores concluíram que o benzoato resultou da subsequente transformação do fenol via decarboxilação, e não por dehidroxilação direta do *p*-hidroxibenzoato (SHARAK GENTHNER *et al.*, 1991). Contudo, esses autores confirmaram a decarboxilação e dehidroxilação simultâneas do *p*-hidroxibenzoato, suportando a hipótese inicial de que o fenol é inicialmente carboxilado a *p*-hidroxibenzoato e subsequentemente dehidroxilado a benzoato.

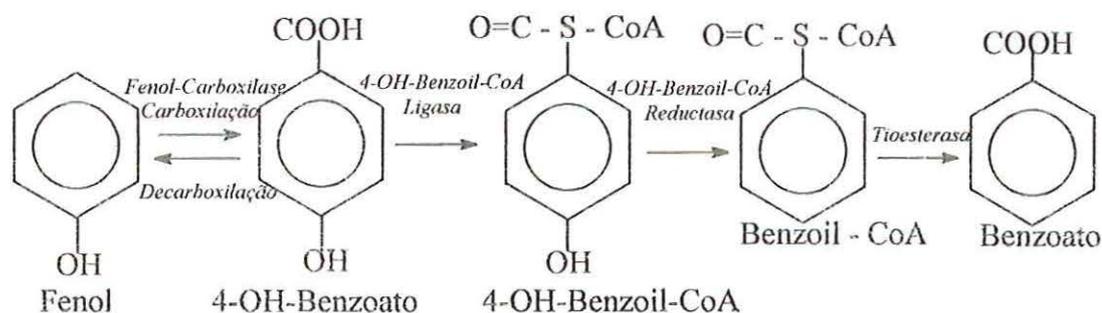
GALLERT *et al.* (1991) utilizaram fenol [U-D] e fenol [4-D] para excluir a possibilidade de carboxilação do fenol no carbono 1 do anel aromático, por um consórcio definido de microrganismos estritamente anaeróbios, verificando que o fenol foi carboxilado a benzoato na posição *para* do anel aromático. Esse consórcio produziu fenol de 4-hidroxibenzoato, sendo que o fenol foi degradado via benzoato a acetato, CO<sub>2</sub> e metano. O benzoato foi encontrado em concentrações muito baixas, não detectáveis analiticamente, mas pode ser produzido em quantidades estequiométricas proporcionais, à pressão parcial de hidrogênio, se esta for incrementada com atmosfera de hidrogênio.

GALLERT & WINTER (1992) observaram, em extratos de células livres de um consórcio anaeróbio definido, degradando fenol ou 4-hidroxibenzoato, duas enzimas decarboxilase 4-hidroxibenzoato e uma enzima carboxilase fenol, sendo possivelmente enzimas das bactérias que degradam fenol no consórcio sintrófico. No entanto, a confirmação da presença dessas enzimas, nas reações que catalisam a degradação de fenol, exigem suas separações e purificações.

BISAILLON, *et al.*, (1993) encontraram um consórcio anaeróbio que carboxilou e hidroxilou fenol a benzoato, sob condições metanogênicas. O fenol foi degradado mais rapidamente por um consórcio previamente adaptado a esse composto. No entanto, o consórcio, crescendo na presença ou na ausência do fenol,

apresentou perfil de crescimento e formas morfológicas similares. Os autores também observaram que fenol foi degradado mais rapidamente do que fenóis com grupos funcionais no anel aromático, observando que a posição desses grupos no anel aromático é importante, já que grupos funcionais na posição *orto* foram degradados, o que não ocorreu para aqueles nas posições *meta* e *para*.

GALLERT & WINTER (1994) observaram que, em um consórcio anaeróbio constituído por bacilos filamentosos sem movimento, metabolizadores de fenol, de dimensões 1,0–1,2  $\mu\text{m}$  x 8–15  $\mu\text{m}$  em tamanho, bacilos filamentosos móveis metabolizadores de benzoato (0,6–0,8  $\mu\text{m}$  x 1,5–5  $\mu\text{m}$ ), poucas células de *Desulfivibrio* sp. e *Methanospirillum hungatei* e utilizando fenol como substrato, a cultura mista catalisou a carboxilação a 4-hidroxibenzoato, a ativação a 4-hidroxibenzoil-CoA e a dehidroxilação redutiva a benzoil CoA, que foi convertida a benzoato por uma tioesterase. Somente as células do consórcio que degradaram fenol foram capazes de catalisar a seqüência dessa reação, apresentada na Figura 3.4.



**FIGURA 3.4— Seqüência da reação de conversão do fenol a benzoil-CoA/benzoato por um consórcio sintrófico degradando fenol.**

Fonte : GALLERT & WINTER, 1994.

O intermediário central na degradação anaeróbia ou anóxica de fenóis foi o benzoil-CoA, formado pela dehidroxilação redutiva ou deaminação dos tioésteres CoA de fenóis substituídos (GALLERT & WINTER, 1994). Estes autores também encontraram que o consórcio sintrófico, degradando fenol, apresentou melhor rendimento de crescimento na presença de 4-hidroxibenzoato, que na presença de fenol, já que o 4-hidroxibenzoato foi principalmente e quase estequiometricamente

decarboxilado a fenol. Essa decarboxilação foi considerada um exemplo de conservação de pequenas porções de energia durante a decarboxilação de substâncias aromáticas, permitindo aos autores concluir que, durante a decarboxilação de 4-hidroxibenzoato, ocorreu aumento dos níveis de ATP, acompanhado pela formação de fenol, indicando que a energia do 4-hidroxibenzoato pode ser transformada em ATP.

Segundo GALLERT & WINTER (1994), outros autores já têm demonstrado crescimento às expensas da conservação de energia da decarboxilação de succinato, ácido oxaloacético, malonato, glutarato, como também conservação da energia durante a descloração de 3-clorobenzoato e 2-clorofenol .

### **3.4.2 – Compostos aromáticos convertidos a fenol, como intermediário, durante a degradação anaeróbia**

Os fenóis originados de processos industriais, cujos resíduos são lançados no meio ambiente, apresentam grande interesse, por serem altamente tóxicos e recalcitrantes quando comparados com os fenóis que são produzidos em fábricas. Esses são fenóis relativamente simples como hidroquinona, ácido gálico, ácido salicílico, ácido *p*-hidroxibenzoico, etc, que devem ser biodegradados para assegurar que o carbono seja reciclado na biosfera. O fenol é um contaminante ambiental freqüente e é também um metabólito da degradação anaeróbia de muitos compostos aromáticos (LONDRY & FEDORAK, 1992).

Na Tabela 3.2 é apresentada uma lista dos compostos aromáticos que têm produzido fenol em culturas de laboratório inoculadas com diferentes aceptores de elétrons. O fenol, como intermediário, pode ser metabolizado até a degradação completa. Por exemplo, LONDRY & FEDORAK (1992) demonstraram que 2,4-diclorofenol foi metabolizado a metano e CO<sub>2</sub> através dos seguintes intermediários: 4-clorofenol, fenol, ácido benzóico, acetato e hidrogênio.

**TABELA 3.2 – Compostos que produzem fenol como um intermediário durante a biodegradação anaeróbia em estudos com culturas mistas.**

Composto	Aceptor terminal de elétrons	Referências
2,4-D	Dióxido de carbono	Gibson & Suflita, 1986
2,4,5-T	Dióxido de carbono	Gibson & Suflita, 1986
Benzeno	Dióxido de carbono	Vogel & Grbic-Galic, 1986
Benzotiofeno	Dióxido de carbono	Grbic-Galic, 1989
Catecol	Dióxido de carbono	Balba & Evans, 1980 <sub>a</sub>
	Dióxido de carbono	Szewzyk <i>et al.</i> , 1985
p-Cresol	Dióxido de carbono	Senior & Balba, 1985
	Dióxido de carbono	Young & Rivera, 1985
2-Clorofenol	Dióxido de carbono	Boyd <i>et al.</i> , 1983
	Dióxido de carbono	Hrudey <i>et al.</i> , 1987a
3-Clorofenol	Dióxido de carbono	Sharak Genthner <i>et al.</i> , 1989a
	Dióxido de carbono	Gibson & Suflita, 1986
4-Clorofenol	Dióxido de carbono	Gibson & Suflita, 1986
2,4-Diclorofenol	Dióxido de carbono	Gibson & Suflita, 1986
	Dióxido de carbono	Zhan & Wiegel, 1990
	Sulfato	Kohring <i>et al.</i> , 1989
2,5-Diclorofenol	Dióxido de carbono	Gibson & Suflita, 1986
2,6-Diclorofenol	Dióxido de carbono	Hrudey <i>et al.</i> , 1987b
	Dióxido de carbono	Dietrich & Winter, 1990
	Sulfato	Hagglblom & Young, 1990
Ácido 2-Hidroxi-benzóico	Nitrato	Kuhn <i>et al.</i> , 1989
Ácido 3-Hidroxi-benzóico	Nitrato	Kuhn <i>et al.</i> , 1989
Ácido 4-Hidroxi-benzóico	Dióxido de carbono	Tschech & Schink, 1986
	Dióxido de carbono	Kuhn <i>et al.</i> , 1989
	Sulfato	Kuhn <i>et al.</i> , 1989
Hidroquinona	Dióxido de carbono	Szewzyk <i>et al.</i> , 1985
	Dióxido de carbono	Young & Rivera, 1985
Fenoxiacetato	Dióxido de carbono	Gibson & Suflita, 1986
Floroglucinol	Dióxido de carbono	Young & Rivera, 1985
Tirosina	Dióxido de carbono	Tarvin & Buswell, 1934

Fonte : LONDRY & FEDORAK, 1992

### 3.4.3 – Reações envolvidas na conversão de benzoato em metano

Segundo FANG *et al.*, (1997), águas residuárias contendo poluentes aromáticos como o fenol caracterizam-se também por conter altas concentrações de sulfato.

Sendo o benzoato o intermediário comum para a degradação de muitas substâncias aromáticas, sua degradação, na presença de sulfato, envolve grande diversidade de bactérias e várias etapas subseqüentes, como apresentado na Tabela 3.3.

**TABELA 3.3 – Reações envolvidas na conversão de benzoato em metano.**

Número da reação	Doador de elétron	Bactéria	Reação
1	Benzoato	BAS	$C_6H_5COO^- + 7H_2O \rightarrow 3CH_3COO^- + HCO_3^- + 3H_2 + 3H^+$
2	Benzoato	BRS (i)	$C_6H_5COO^- + 0,75SO_4^{-2} + 4H_2O \rightarrow 3CH_3COO^- + 0,75HS^- + HCO_3^- + 2,25H^+$
3	Benzoato	BRS (c)	$C_6H_5COO^- + 3,75SO_4^{-2} + 4H_2O \rightarrow 7HCO_3^- + 3,75HS^- + 2,25H^+$
4	Acetato	BPM-A	$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$
5	Acetato	BRS (c)	$CH_3COO^- + SO_4^{-2} \rightarrow 2HCO_3^- + HS^-$
6	Hidrogênio	BPM-H	$HCO_3^- + 4H_2 + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$
7	Hidrogênio	BRS (c)	$SO_4^{-2} + 4H_2 + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O$

Nota : BAS = bactérias acetogênicas sintróficas. BRS (i) = bactérias redutoras de sulfato, realizando degradação incompleta. BRS (c) = bactérias redutoras de sulfato, realizando degradação completa. BPM-A = arqueas produtoras de metano, consumindo acetato. BPM-H = arqueas produtoras de metano consumindo hidrogênio.

Fonte : FANG *et al.*, 1997

De acordo com a Tabela 3.3, o benzoato é primeiramente convertido pelas Bactérias acetogênicas sintróficas (BAS) em acetato e hidrogênio (reação 1), ou convertido pelas Bactérias redutoras de sulfato (BRS) em acetato (reação 2), ou

convertido pelas BRS em bicarbonato (reação 3). No processo de degradação subsequente, Arqueas produtoras de metano (BPM) e BRS competem por acetato e hidrogênio, produzindo metano (reações 4 e 6) e sulfetos (reações 5 e 7). Os doadores de elétrons (na forma de DQO), na água residuária, podem ser convertidos a metano ou várias formas de sulfeto.

#### 3.4.4 – Nutrientes necessários para a degradação metanogênica de fenol

Em estudos típicos sobre a degradação metanogênica de fenol e compostos fenólicos, misturas de sais inorgânicos, e freqüentemente soluções de vitaminas são adicionadas ao substrato, para que não sejam considerados limitantes ao processo (FEDORAK & HRUDEY, 1986).

Em estudos de degradação em reatores em batelada alimentada, utilizando lodo anaeróbico doméstico e uma mistura de seis fenóis : fenol (4900 mg/L), *o*-cresol (451 mg/L), *p*-cresol (1645 mg/L), 2,5-dimetilfenol (65 mg/L), 3,5-dimetilfenol (212 mg/L) e 3,4-dimetilfenol (46 mg/L), foram utilizadas: vitaminas B (ácido nicotínico, cianocobalamina, tiamina, ácido *p*-aminobenzóico, piridoxina, e ácido pantoténico); sais minerais macronutrientes ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , e  $\text{Mg}^{2+}$ ); sais minerais micronutrientes (metais traço); e também fosfato e bicarbonato para avaliar necessidades de nutrientes de consórcios metanogênicos (FEDORAK & HRUDEY, 1986). Foram operados reatores com alimentação semi-contínua, com concentrações finais de fenol de 5,9 mg/L, nos quais foi omitido um dos componentes do substrato. Nas ausências de bicarbonato, sais minerais macronutrientes e fosfato, os reatores deixaram de produzir metano nos dias 28, 50, e 116, respectivamente, tendo ocorrido o acúmulo de fenol e *p*-cresol. Embora o pH tenha abaixado na ausência de bicarbonato, manteve-se na faixa típica de operação (6,0 – 8,0) citada para reatores anaeróbios, sendo improvável que a falta de bicarbonato tenha sido a causa da inatividade metanogênica nos reatores. Contudo, a incapacidade do consórcio para degradar fenol, na ausência de bicarbonato, sugeriu que as bactérias que degradam fenol necessitam de  $\text{CO}_2$ , como muitas bactérias do rumem. Nos reatores onde foram omitidos as vitaminas B e os minerais micronutrientes, as velocidades de produção de metano não foram afetadas além do dia 189 do experimento, para as taxas de carregamento estudadas. Sais minerais macronutrientes e fosfato foram as fontes

principais de nutrientes, pois, quando ausentes, favoreceram a inatividade metanogênica dos reatores, variando a relação C:N:P da requerida (700:5:1). As vitaminas B são sintetizadas por bactérias em ambientes anaeróbios, como rumem e intestino de outros animais, sendo provável que as bactérias que degradam compostos fenólicos também sintetizem essas vitaminas.

Outros estudos têm demonstrado que consórcios metanogênicos que degradam fenol são dependentes de aminoácidos ou de proteose peptona como nutrientes (LÉPINE *et al.*, 1996; BEAUDET *et al.*, 1986).

BÉCHARD *et al.*, (1990) verificaram a importância da proteose peptona na transformação do fenol, sendo este, ou um dos seus intermediários, a fonte de carbono e energia para os microrganismos carboxilantes.

<sup>4</sup>KOBAYASHI *et al.*, apud FANG *et al.*, (1996) observaram a biodegradação do fenol sob condições anaeróbias, com requerimentos de peptona como co-substrato para os microrganismos anaeróbios.

SATSANGEE & GHOSH (1990) encontraram, em estudos realizados em reatores em batelada, que a glicose interfere no consumo de fenol por culturas adaptadas a esse composto, sendo a interferência dependente do nível de glicose inicialmente presente. A velocidade de consumo de fenol foi maior na ausência de glicose e muito menor na presença de 20,0 mg/L de glicose.

BISAILLON *et al.*, (1991) estudaram um consórcio de bactérias anaeróbias sob condições metanogênicas que carboxilou fenol a benzoato na presença de proteose peptona. Extrato de levedura ou uma mistura de triptofano e lisina substituíram a proteose peptona sem afetar as atividades carboxilantes. No entanto, deve ser confirmado se a mistura de aminoácidos é a fonte de carbono e de energia dos microrganismos carboxilantes. A atividade carboxilante do consórcio foi afetada quando proteose peptona foi substituída por glicose, glicerol, piruvato, ácidos graxos voláteis ou bicarbonato de sódio.

O fornecimento de nutrientes às águas residuárias industriais, durante tratamento biológico, é caro e deve ser evitado quando possível. Porém, o conhecimento da composição da água residuária é importante para otimizar seu

---

<sup>4</sup> KOBAYASHI, T. ; HASHINAGA, T.; MIKAMI, E. ; SUZUKI, T. (1989). Methanogenic degradation of phenol and benzoate in acclimated sludges. *Water Science Technology*, 21: 55 – 65.

enriquecimento nutricional. Por exemplo, os efluentes da indústria de conversão de carvão geralmente contêm alta alcalinidade, amônia e alguns metais traço. O fornecimento de vitaminas B não parece ser necessário para a degradação de fenol e *p*-cresol, porém o fornecimento de fosfato é requerido no tratamento dessas águas residuárias, (FEDORAK & HRUDEY, 1986).

#### 3.4.5 – Microrganismos envolvidos na degradação anaeróbia de fenol

Os consórcios que degradam fenol têm sido caracterizados pela presença de três grupos de bactérias que interagem fisiologicamente : metabolizadoras de fenol, metanogênicas que utilizam hidrogênio e metanogênicas acetotróficas, todos indispensáveis para a biodegradação completa de fenol a metano e dióxido de carbono (SATSANGEE & GHOSH, 1990).

LÉTOURNEAU *et al.*, (1995) observaram que os microrganismos envolvidos na carboxilação do fenol podem não ser sintróficos, pois a inibição da metanogênese não afetou a carboxilação do fenol, e a presença ou ausência de hidrogênio na atmosfera gasosa não impediu o acúmulo de ácido benzóico.

No entanto, posteriormente, KNOLL & WINTER (1989) selecionaram bactérias anaeróbias de um consórcio sintrófico obrigatório, crescendo em meio mineral, contendo fenol como única fonte de carbono e de energia, que transformou ácido *p*-hidroxibenzóico em fenol e este a ácido benzóico.

Resultados de experimentos de alimentação e estudos cinéticos sugeriram que o consórcio continha: duas bactérias diferentes em forma de bacilos, uma bactéria semelhante a vibrio e *Methanospirillum Hungatei*. As bactérias em forma de bacilos tinham pontas arredondas e coloração gram-negativa.

O bacilo maior e sem movimento, com diâmetro entre 1,0 µm e 1,2 µm e comprimento entre 8 µm e 14 µm, tinha sido responsável pela conversão de 4-hidroxibenzoato a fenol e pela carboxilação de fenol a benzoato, enquanto que, o bacilo menor, com movimento, diâmetro entre 0,6 µm e 0,8 µm, comprimento entre 1,5 µm e 5 µm, foi o bacilo predominante e responsável pela degradação do ácido benzóico a ácido acético, CO<sub>2</sub> e hidrogênio, em sintrofia com as arqueas metanogênicas. O vibrio, presente em pouca quantidade, foi isolado e identificado como *Desulfovibrio* sp.

<sup>5</sup>JEANNIN apud LÉTOURNEAU *et al.*, (1995) observou a presença de *Clostridium* sp. em um consórcio degradando fenol, após adição de glicose ao substrato, mas o papel dessa bactéria, na degradação de fenol, nunca foi demonstrado.

LÉTOURNEAU *et al.*, (1995) encontraram microrganismos formadores de esporos (*Clostridium* sp.) envolvidos na carboxilação do fenol e na decarboxilação e dehidroxilação do ácido 4-hidroxibenzoico. Os autores submetem um consórcio metanogênico a temperaturas crescentes, em presença ou ausência de etanol, para caracterizar os microrganismos carboxilantes. Os microrganismos carboxilantes resistiram ao calor (90 °C) e também conservaram sua atividade nas diferentes transferências feitas para várias subculturas. Durante essas transferências, a população responsável pela carboxilação provavelmente aumentou, explicando assim a rápida transformação do fenol. Nas subculturas, a população original não reapareceu, uma vez que ácido benzoico não foi degradado e metano não foi produzido. Esses autores também sugerem que a metanogenese não esteja envolvida na carboxilação de fenol e, além disso, que a bactéria responsável pela degradação do ácido benzoico não seja essencial para a transformação do fenol.

Embora em grânulos anaeróbios, que degradam fenol, não exista um tipo de bactéria predominante, FANG *et al.*, (1996) observaram claramente quatro tipos, incluindo: bactéria semelhante à que degrada benzoato, *Syntrophus buswelli*; arquea metanogênica acetotrófica semelhante ao gênero *Methanotherix* sp.; e arqueas metanogênicas hidrogenotróficas semelhantes aos gêneros *Methanospirillum hungatei* sp. e *Methanobrevibacter* sp.

BISAILLON *et al.*, (1991) observaram que o consórcio anaeróbio estudado, crescendo na presença de fenol e proteose peptona, estava constituído por sete tipos morfológicos diferentes. Quando a proteose peptona foi substituída por triptofano e lisina, os tipos morfológicos foram reduzidos a seis, não sendo mais observada a bactéria predominante. Após o ácido 2-bromoetanosulfônico (BESA) ser adicionado ao consórcio, as cadeias longas de bacilos grandes deixaram de ser observadas, sendo

---

<sup>5</sup> JEANNIN, P. (1986). Dégadation du phénol en conditions méthanogènes. Aspects microbiologiques et biochimiques. *Ph.D. thesis, Université Claude Bernard and École vétérinaire de Lyon, France.*

identificados, de acordo com suas características morfológicas, como arqueas da espécie *Methanothrix* sp.

Finalmente, apenas cinco tipos morfológicos permaneceram no consórcio : cocos, bacilos pequenos, bacilos grandes, cocobacilos com pontas afinadas e esporos.

Segundo BÉCHARD *et al.*, (1990), a grande variedade de microrganismos observados no consórcio anaeróbio utilizado sugere que um complexo microbiano esteve presente. Isso poderia ser, em grande parte, devido à presença de proteose peptona, suporte de crescimento de bactérias não essenciais à degradação de fenol a metano. Os autores acreditam que a carboxilação é realizada por microrganismos especializados, que podem co-existir com arqueas acetogênicas e metanogênicas.

### **3.5 – Degradação de fenol em reatores com operação em batelada ou semi-contínua**

De acordo com SHELDON (1995), análises de toxicidade acetoclástica foram realizados em reatores com alimentação em batelada para avaliar a toxicidade de diferentes concentrações de fenol em uma mistura de lodo granular anaeróbio proveniente do tratamento de águas residuárias contendo ácido acético, sacarose e lodo proveniente de uma indústria de papel, com uma biomassa de 13,0 gSSV/L e atividade acetoclástica específica de 0,8 gDQO/gSSV.d a 1,1 gDQO/gSSV.d. Os autores concluíram que concentrações de fenol abaixo de 500 mg/L não apresentam toxicidade significativa ao processo.

BÉCHARD *et al.*, (1990) realizaram estudos em reatores em batelada, utilizando o consórcio de bactérias anaeróbias previamente isolado por BEAUDET *et al.*, (1986), devido à sua capacidade para transformar compostos fenólicos sob condições metanogênicas.

FANG *et al.*, (1997) estudaram a influência da toxicidade do fenol nos grânulos de um reator UASB, tratando águas residuárias com diferentes substratos. Esses autores, utilizaram lodo proveniente do reator UASB e inocularam reatores em batelada observando que a toxicidade do fenol sobre os grânulos, foi diretamente proporcional à concentração de fenol. As concentrações de fenol para as quais a bioatividade foi 50% da do controle foram de 1750 mg/L, 1000 mg/L e 1700 mg/L, para grânulos degradando acetato, propionato e benzoato, respectivamente.

### 3.6 – Degradação de fenol em reatores com alimentação contínua

Estudos realizados em reatores UASB, com taxas de carregamento orgânico tão baixas como 30,0 mgDQO/gSSV.d., tratando água residuária sintética com 1200 mgDQO/L e contendo fenol como única fonte de carbono e energia, atingiram eficiência de remoção de DQO superior a 95%. O biogás produzido durante a partida dos reatores, apresentou, em média, 75% de metano e a produção de metano esteve dentro do 5% do valor teórico (0,35 L.CH<sub>4</sub>/gDQO), baseado na massa de DQO metabolizada (SHELDON, *et al.*, 1995).

Considerando que o benzoato é um poluente comum, especialmente da indústria química, e que também é um intermediário chave na degradação de muitos produtos químicos aromáticos complexos, LI *et al.*, (1995) investigaram o desempenho de um reator UASB no tratamento de águas residuárias contendo benzoato concentrado, verificando sua efetiva remoção no processo. O reator UASB, em escala de laboratório, foi operado a 37 °C, pH 7,5 e tempo de detenção hidráulica de 9,8 horas, removendo entre 97% e 99% da DQO solúvel e 91% a 95% da DQO total, para taxas de carregamento de até 30,6 gDQO/L.d., baseados no volume do reator. Aproximadamente 95,2% da DQO total removida foi convertida a metano e o restante foi convertido em biomassa, com rendimento médio de 0,034 gSSV/gDQO. Os grânulos degradando benzoato atingiram tamanho entre 1 mm e 3 mm, apresentando boa sedimentabilidade. Esses resultados sugerem a viabilidade do tratamento de águas residuárias industriais, contendo poluentes aromáticos, por processo anaeróbio.

Um reator anaeróbio de fluxo ascendente UASB, operado com águas residuárias contendo fenol, taxa de carregamento orgânico de 6,0 gDQO/L.d., e relação de recirculação de 1:1, apresentou remoção de fenol de 97%. O reator foi mantido à temperatura de 37 °C, o pH variou entre 6,8 e 7,5, o tempo de detenção hidráulica foi de 12 horas, para a concentração de fenol de 1287 mg/L, correspondendo à DQO de 3065 mg/L (FANG *et al.*, 1996).

KUPFERLE *et al.*, (1995) desenvolveram um sistema constituído por uma etapa de contato/absorção, consistindo de um reator de leito expandido, com carvão ativado granular e biomassa anaeróbia aderida, usado como pré-tratamento, seguido de um sistema de clarificação primário, antes do tratamento aeróbio. A etapa de

contato/absorção foi destinada a reduzir a concentração dos tóxicos, retendo-os, para posterior tratamento, em um reator de estabilização anaeróbia. Foram operados dois sistemas em escala de laboratório, cada um com 87 L/d. Um deles foi operado apenas com efluente primário e, o outro, com mistura de efluente primário e lixiviado de aterro sanitário, contendo 14 compostos orgânicos perigosos. No sistema com lixiviado e os compostos orgânicos, as remoções na etapa de absorção foram maiores para os compostos aromáticos, tendo a remoção de fenol atingido 85%. Nos dois sistemas, a remoção de DQO permaneceu entre 40% e 50%, durante todo o experimento.

KETTUNEN *et al.*, (1996) utilizaram um sistema seqüencial anaeróbio (UASB) – aeróbio, para tratar as águas geradas no processamento do óleo obtido de sedimentos rochosos contendo vários compostos fenólicos, alta concentração de enxofre, principalmente na forma de sulfato e sulfeto, e pH elevado. Essas águas apresentaram DQO entre 2000 mg/L e 3000 mg/L e foram estudadas entre 7 °C – 10 °C e a 20 °C. A remoção média da DQO permaneceu entre 67% e 73% e da DBO<sub>7</sub> entre 97 % e 99%, para as temperaturas de 10 °C e 20 °C. A DQO média efluente foi significativamente menor a 20 °C (520 ± 20 mg/L) do que a 10 °C (610 ± 50 mg/L). Esse processo seqüencial produziu efluente de qualidade estável, embora a DQO afluente apresentasse variações. Os menores valores médios da DQO e da DBO<sub>7</sub> efluente foram obtidos a 20 °C, e não a 10 °C. Nesse experimento, a etapa anaeróbia foi bastante ineficiente na remoção da DQO (<30%), especialmente a 10 °C, provavelmente devido à produção de sulfeto. Além disso, a remoção da DQO, na etapa anaeróbia a 10 °C, variou muito. No tratamento seqüencial, a remoção de fenóis totais esteve entre 78% a 86%; contudo, na etapa da degradação anaeróbia, a remoção de fenóis totais foi mínima. Embora sabendo que a degradação anaeróbia de compostos aromáticos é possível, os autores atribuem a baixa remoção de fenóis totais às limitações do método analítico (método fotométrico direto, sem destilação).

Segundo GARCIA *et al.*, (1997), no tratamento de vinhaça, a remoção de compostos fenólicos, (através de um pré-tratamento biológico aeróbio utilizando fungos como *Aspergillus Terreus* e *Geotrichum Candidum*, que têm demonstrado degradar compostos fenólicos em vinhaça e em águas residuárias similares), facilita a posterior degradação anaeróbia da vinhaça.

FANG *et al.*, (1997) tratando águas residuárias com diferentes substratos, em condições de carregamento contínuo em um reator UASB, não observaram correlação direta entre a toxicidade e a concentração de fenol. Porém, o fenol apresentou diferentes limites de toxicidade para biogrânulos degradando diferentes substratos. O limite de toxicidade de fenol para grânulos degradando benzoato esteve entre 1050 mg/L – 1600 mg/L; para propionato, foi menor que 850 mg/L e, para acetato, esteve entre 1100 mg/L – 1700 mg/L. Abaixo desses limites, o fenol não inibiu a atividade dos grânulos; porém, acima, a inibição foi praticamente total. Esses resultados indicam que os biogrânulos exibem alto grau de tolerância ao fenol, tanto em reatores com alimentação contínua, como em reatores em batelada.

### **3.7 – Reatores biológicos de filme fixo utilizados na remoção de fenol**

#### **3.7.1 – Capacidade de retenção dos microrganismos na remoção do fenol**

Pesquisas sobre tratamento biológico anaeróbio de contaminantes orgânicos, presentes em águas residuárias industriais e perigosas, têm sido direcionadas para melhorar a capacidade de retenção dos microrganismos no processo, fornecendo, ao mesmo tempo, um ambiente operacional menos agressivo aos microrganismos. A inibição causada pela concentração muito elevada de substrato orgânico primário ou pela presença de outros substratos orgânicos não degradáveis ou inorgânicos tóxicos, podem limitar o processo biológico anaeróbio, como tratamento alternativo (KINDZIERSKI *et al.*, 1992).

Vários termos são utilizados para descrever categorias de mecanismos de retenção pela fase sólida (XING *et al.*, 1994). O termo sorção é usado porque é difícil diferenciar entre adsorção física e química, para descrever a aderência do material orgânico ao carvão ativado granular (METCLAF & EDDY, 1991). Esse termo pode ser utilizado, genericamente, para absorção de um soluto, chamado de sorbato, sem referência a nenhum mecanismo específico. Igualmente, sorvente pode ser utilizado como o termo genérico para materiais sólidos, sobre o qual a sorção ocorre, sem referência ao mecanismo de absorção. Adsorção, pode ser definida como um acúmulo de um soluto, na superfície, por ligações físicas e químicas (XING *et al.*, 1994). Também pode ser entendida como um processo de transferência de substâncias em solução, numa interface adequada. Essa interface pode ser

líquido/gás, líquido/líquido e sólido/líquido (METCALFY & EDDY, 1991), diferente do termo partição, utilizado para descrever a absorção de um soluto em uma matriz de sólidos orgânicos por forças comuns à solução, tais como as forças de Van der Waals (XING *et al.*, 1994).

O uso do carvão ativado, para a remoção de fenol de sistemas aquosos, aumentou na década passada; contudo, há pouca informação sobre a sorção de compostos orgânicos por carvão ativado (XING *et al.*, 1994).

Segundo GALLERT & WINTER (1993), não são conhecidos estudos relatando a absorção do fenol por microrganismos anaeróbios. No entanto, os autores estudaram a absorção do fenol por bactérias anaeróbias que metabolizam fenol em um consórcio estável, estritamente anaeróbio. Os autores encontraram que o fenol foi absorvido, sem especificidade, por células ativas e por células inativas do consórcio. O acúmulo de fenol ou nível de saturação,  $Q_{10}$ , mostrou que o acúmulo ocorreu por processos de difusão ou difusão facilitada e não por transporte ativo. Observaram, também, que a absorção de fenol foi dependente da temperatura, sendo completamente absorvido a 37 °C.

### **3.7.2 – Utilização de materiais suporte para adesão de microrganismos na remoção de fenol**

A forma e tipo de material suporte, utilizado para a aderência dos microrganismos, pode melhorar o desempenho do reator e diminuir o fenômeno de inibição (KINDZIERSKI *et al.*, 1992). Nesses reatores, o desenvolvimento e manutenção do biofilme formado é importante para garantir alta eficiência e produção de metano no sistema de tratamento. Contudo, a formação do biofilme depende das características das bactérias, da vazão afluyente e das características do suporte sólido (KURODA *et al.*, 1988).

Alguns exemplos de materiais suporte que têm sido testados ou utilizados em processos anaeróbios são: pedras, tijolo, antracito, carvão ativado granular, vidro, lâminas de cloreto de polivínila, argila, agulhas de poliéster e espuma de poliuretano reticulada. Carvão ativado granular tem sido utilizado como material suporte em vários estudos, como no tratamento anaeróbio de fenóis e águas residuárias contendo fenol. Esse material suporte é muito requisitado para essas aplicações, porque sua

capacidade de adsorção permite tratar altas concentrações de fenóis, ou de outros compostos inibidores, que podem exceder a faixa de tolerância das bactérias anaeróbias (KINDZIERSKI *et al.*, 1995).

Para avaliar os benefícios potenciais do material suporte biológico é necessário considerar parâmetros que influenciam na interação microrganismo – material suporte. As características do material suporte que apresentam influência na adesão inicial e aderência dos microrganismos incluem: energia livre, carga, área e aspereza superficiais e volume dos poros. Também são importantes: concentração do eletrólito, pH, fatores hidrodinâmicos do meio líquido e a carga superficial dos microrganismos (KINDZIERSKI *et al.*, 1992).

Contudo, outros autores têm expressado que o alcance e a especificidade da adsorção das bactérias, sobre superfícies sólidas, são mais fortemente influenciados pelas espécies de bactérias adsorvidas. Por exemplo, espécies Gram-positivas aderem mais fortemente a muitos materiais do que espécies Gram-negativas. Muitas bactérias suportam carga negativa no meio líquido e como muitas superfícies estão também carregadas negativamente, diversas forças de repulsão podem tornar-se importantes no processo inicial de adesão de bactérias à superfície (KINDZIERSKI *et al.*, 1992).

VERRIER *et al.*, (1987), observaram que o comportamento de aderência inicial de bactérias metanogênicas sobre superfícies poliméricas de diferentes hidrofobicidades pode ser explicada pela carga líquida superficial das bactérias metanogênicas.

KURODA *et al.*, (1988), relataram que a aderência de bactérias formadoras de ácido e de metano a suportes sólidos como vidro, aço inoxidável, carvão, cerâmica, resina, zeólitos, terra diatomácea e material fibroso de alumínio plastificado, apresentou melhores características de formação de biofilme e de adesão que materiais suporte sólidos feitos de carvão com diâmetro de poros entre 150  $\mu\text{m}$  e 300  $\mu\text{m}$ .

### 3.7.3 – Imobilização de biomassa utilizada na remoção de fenol por processo anaeróbio

Devido às baixas velocidades de crescimento microbiano anaeróbio e conseqüentemente à baixa produção de biomassa, os reatores biológicos que contêm biomassa imobilizada apresentam melhor desempenho no tratamento anaeróbio de águas residuárias. Dentre esses pode-se citar os reatores de filme fixo, de leito expandido e os anaeróbios de manta de lodo e fluxo ascendente. Esses sistemas fornecem tempos de retenção de biomassa que apresentam magnitudes muito superiores ao tempo de detenção hidráulica.

A tecnologia de imobilização celular foi desenvolvida primeiro e industrializada no campo da biotecnologia, onde eram utilizadas culturas puras. A aplicação dessa tecnologia ao tratamento de águas residuárias pode oferecer várias vantagens sobre os processos convencionais, como: alta retenção de biomassa dentro do reator, proteção das bactérias de materiais inibitórios e utilização seletiva de espécies particulares de bactérias (HANAKI *et al.*, 1994), manutenção da atividade catalítica e eficiente mineralização do substrato através da retenção de produtos intermediários, fornecendo vantagens termodinâmicas e cinéticas quando a mineralização envolve bactérias sintróficas e consórcios metanogênicos (DWYER *et al.*, 1986).

Pesquisas sobre imobilização de microrganismos no tratamento de águas residuárias foram iniciadas na década de oitenta em processos de lodos ativados, nitrificação, desnitrificação, degradação de substâncias tóxicas e digestão anaeróbia (HANAKI *et al.*, 1994).

Compostos que apresentam efeitos inibidores sobre as arqueas metanogênicas podem, também, causar sérios problemas ao processo anaeróbio. Esses compostos incluem matéria orgânica que pode ser degradada no processo anaeróbio (fenol, ácidos graxos de cadeia longa ou ácidos graxos voláteis) e compostos inorgânicos que não são degradados ou mesmo produzidos no processo anaeróbio (metais pesados ou amônia). A possibilidade de proteção das arqueas metanogênicas pela imobilização celular é uma alternativa para diminuir esses problemas (HANAKI *et al.*, 1994).

Arqueas metanogênicas, no processo de tratamento anaeróbio, são sensíveis a ambientes instáveis associados com a flutuação da vazão afluyente e das concentrações dos constituintes das águas residuárias ou presença de substâncias tóxicas. Alterações na composição do afluyente causam, com freqüência, queda do pH, quando a taxa de remoção de ácidos voláteis, através da metanogênese, não acompanha suas velocidades de produção. A acidificação moderada pode ser superada, se as arqueas metanogênicas puderem manter ou mesmo melhorar sua capacidade de degradar ácidos voláteis (HANAKI *et al.*, 1994). Contudo, o sistema de tratamento anaeróbio pode ter sua função prejudicada (falha do processo) quando a queda de pH exceder um certo nível, inibindo as arqueas metanogênicas. A estabilidade do processo, quando ocorre condição temporária de pH baixo, é de grande importância do ponto de vista de operação prática do processo. Com a imobilização celular, as arqueas metanogênicas podem ficar mais protegidas dessa condição, ajudando no melhoramento da estabilidade do processo (HANAKI *et al.*, 1994).

Realizando experimentos em reatores do tipo batelada, HANAKI *et al.*, (1994), observaram que as células imobilizadas toleraram maiores concentrações de fenol que as células não imobilizadas e que nenhuma inibição importante aconteceu quando foram adicionados 1500 mg/L de fenol.

Os reatores biológicos de filme fixo apresentam vantagens como: perda mínima de sólidos e longos tempos de retenção celular, fornecendo máxima estabilização da matéria orgânica dentro do reator. Por esse motivo, é importante o entendimento da biodegradabilidade de compostos aromáticos substituídos, em um sistema de crescimento aderido, já que crescimentos aderidos são, usualmente, as formas predominantes da biomassa microbiana em solos e aquíferos (LATAKAR & CHAKRABARTI, 1994).

A estimulação do crescimento microbiano “in situ” oferece a probabilidade de converter uma ampla variedade de contaminantes dissolvidos e adsorvidos em produtos inofensivos. Os métodos utilizados para recuperação dos terrenos contaminados podem empregar os sistemas de biotratamento tradicionais, visando a remoção do poluente. A combinação desses procedimentos constitui a tecnologia conhecida por Biorremediação.

### 3.8 – Cinética de crescimento microbiano e de inibição por substrato na degradação de fenóis

Pesquisas com diferentes microrganismos têm demonstrado seus potenciais na biodegradação dos poluentes orgânicos presentes no meio ambiente e sua possível aplicação nos sistemas de tratamento de águas residuárias.

Devido à sua natureza altamente tóxica, os compostos fenólicos são particularmente resistentes à biodegradação, sendo a eficiência do processo biológico dependente da adaptação do sistema biológico e do controle sobre o processo (WEN *et al.*, 1994).

Portanto, o desempenho desses sistemas de tratamento é amplamente dependente da cinética de crescimento microbiano. Por esse motivo, é essencial um melhor entendimento dos mecanismos de utilização de compostos fenólicos pelos microrganismos, para definir condições operacionais para a remoção efetiva desses compostos, durante o tratamento de águas residuárias.

Uma variedade de fatores influenciam a cinética de crescimento microbiano, a saber: concentração de substrato, temperatura, pH, disponibilidade de oxigênio dissolvido (processos aeróbios), força iônica, etc. Tem sido demonstrado que a inibição por altas concentrações de substrato (compostos orgânicos) retarda o crescimento microbiano. A velocidade de crescimento a partir de um composto individual pode ser influenciada pela presença de diferentes componentes orgânicos e inorgânicos contidos no substrato. Portanto, as cinéticas de crescimento microbiano, a partir de mistura de compostos orgânicos, podem diferir daquelas nas quais um único composto orgânico é utilizado como fonte de carbono.

O crescimento microbiano é descrito por :

$$\frac{dX}{dt} = \mu \times X \quad (3.1)$$

em que:

$dX/dt$  : velocidade líquida de crescimento de bactérias, (M.L<sup>-3</sup>.T<sup>-1</sup>)

$\mu$  : velocidade específica de crescimento de microrganismos, (T<sup>-1</sup>)

X : concentração de microrganismos, (M.L<sup>-3</sup>)

A formação de massa celular e o substrato estão relacionados através do coeficiente de produção celular, definido como:

$$Y = -\frac{dX}{dS} \quad (3.2)$$

em que:

Y : coeficiente de produção celular, (adimensional)

S : concentração de substrato no meio, (M.L<sup>-3</sup>)

Embora o fator de rendimento seja freqüentemente constante, existe um modelo que incorpora a utilização de substrato para manutenção celular, (SILVA, 1995):

$$\frac{1}{Y} = \frac{1}{Y_g} + \frac{m}{\mu} \quad (3.3)$$

em que :

Y<sub>g</sub> : coeficiente de rendimento para crescimento, (adimensional)

m : velocidade específica de consumo de substrato para manutenção, (T<sup>-1</sup>)

Se a velocidade específica de crescimento for grande, quando comparada à velocidade específica de consumo de substrato para manutenção, ou se  $m = 0$ , então o fator de rendimento será constante, e será dado por Y<sub>g</sub>.

Para aplicação das equações anteriores para um processo de crescimento deve ser fornecida a relação entre a velocidade específica de crescimento,  $\mu$ , e a concentração de substrato limitante, S.

A equação de Monod é o modelo cinético de relações entre  $\mu$  e S, geralmente utilizado para substratos não tóxicos; a equação de Haldane, ou as equações modificadas de Haldane, são adotadas principalmente para modelos cinéticos de inibição de substrato ou de substratos tóxicos (WEN, *et al.*, 1994).

Segundo WEN *et al.*, (1994), na biodegradação de compostos fenólicos há dois pontos de vista opostos com relação ao uso de funções relacionando velocidade de crescimento específica ( $\mu$ ) à concentração de fenol. Uma das linhas de pensamento considera o fenol como um composto não inibitório para uma população adaptada e sua degradação segue uma função hiperbólica, como a descrita pela relação de Monod. Outros autores têm demonstrado que o modelo inibitório descreve

melhor a relação entre  $\mu$  (velocidade específica de utilização do substrato) e concentração de substrato (S).

Portanto, para compostos inibitórios a equação de Haldane é considerada a expressão cinética mais aceitável para o crescimento de microrganismos (BAE, *et al.*, 1995).

WEN *et al.*, (1994) demonstraram que a função de inibição foi melhor apresentada pela equação de Haldane (equação 3.4) e por outras equações propostas (equação 3.5 e 3.6).

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \times S}{S + K_s + \frac{S^2}{K_i}} \quad (3.4)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max}}{1 + \left(\frac{K_s}{S}\right) + \left(\frac{S}{K_i}\right)^n} \quad (3.5)$$

$$\mu = \mu_{\max} \left[ \text{Exp}\left(\frac{-S}{K_i}\right) - \text{Exp}\left(\frac{-S}{K_s}\right) \right] \quad (3.6)$$

Em que :

$\mu$  = velocidade específica de crescimento de microrganismos, ( $T^{-1}$ )

S = concentração de substrato no meio, ( $M.L^{-3}$ )

$\mu_{\max}$  = velocidade específica máxima de crescimento de microrganismos, ( $T^{-1}$ )

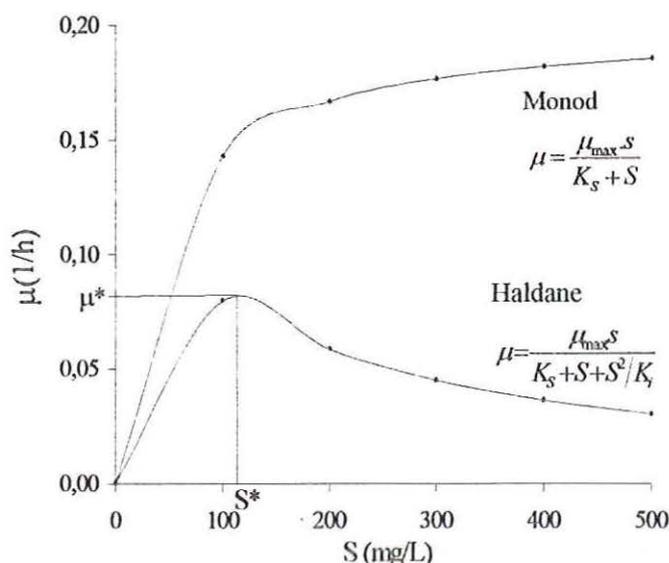
n = ordem de inibição

$K_s$  = constante de saturação, definida como a concentração de substrato limitante na que  $\mu = 0,5\mu_{\max}$ , ( $M.L^{-3}$ )

$K_i$  = constante de inibição, usada para substratos inibitórios, ( $M.L^{-3}$ )

Quando o substrato não é tóxico, concentrações maiores resultam em aumentos das velocidades específicas de crescimento, aproximando-se assintoticamente da velocidade de crescimento máxima,  $\mu_{\max}$ . Quando o substrato é tóxico, o aumento da concentração de substrato produz aumento na velocidade de

crescimento por um intervalo muito limitado. Acima de uma concentração crítica de substrato,  $S^*$ , a toxicidade do substrato provoca decréscimo na velocidade de crescimento,  $\mu^*$ . Deve ser ressaltado que quando  $K_i$  aproxima-se de infinito, a relação de Haldane aproxima-se da relação de Monod, como apresentado na Figura 3.5, (SILVA, 1995).



**FIGURA 3.5— Comparação da relação entre a velocidade específica de crescimento  $\mu$ , e a concentração de substrato,  $S$ , para as relações de Monod e de Haldane. os valores usados para efetuar os cálculos foram :  $U_{\text{MAX}} = 0,20$  h<sup>-1</sup>;  $K_S = 40$  mg/L;  $K_i = 90$  mg/L. (SILVA, 1995).**

Vários pesquisadores têm empregado outras equações para descrever características dos processos anaeróbios. NEUFELD (1979) utilizou a equação 3.5 na descrição das características de um processo anaeróbio tratando águas residuárias fenólicas e considerou ser esse um bom modelo para ser aplicado no tratamento de substratos tóxicos, pois permite prever, com precisão, os parâmetros  $\mu_{\text{máx}}$ ,  $K_s$ ,  $K_i$  e  $n$ .

<sup>6</sup>CHENG *et al.*, apud WEN *et al.*, (1994) aplicaram a equação 3.6 na descrição das variáveis de operação de um reator anaeróbio de fluxo ascendente, com manta de lodo e recirculação, tratando fenol, encontrando que essa equação forneceu

<sup>6</sup> CHENG, S. S.; Ma K. H. (1988). A modified process study of recycled UASB for treating phenolic wastewater. *IAWPRC's. Asian Workshop on Anaerobic Treatment*. Bangkok, Thailand. November

informação importante para a operação do reator, embora, a explicação do significado científico dos parâmetros  $K$ ,  $K_i$ ,  $K_s$  e  $n$  não tenha sido possível.

É importante observar que muitas pesquisas têm sido realizadas para um único substrato, embora as águas residuárias sempre apresentem múltiplas fontes de carbono. Considerando a co-existência de substratos não inibitórios e inibitórios na água residuária, o efeito de substratos múltiplos no crescimento microbiano não é adequadamente caracterizado sob condições de substrato único. Estudos anteriores mostraram que a presença de substratos não inibitórios no crescimento microbiano estimulou a síntese de células ativas, aumentando a estabilidade dos reatores e, conseqüentemente, a velocidade de remoção do composto em estudo (BAE *et al.*, 1995).

Outros estudos têm demonstrado o uso preferencial de substratos menos inibitórios (fenol) em relação aos substratos mais inibitórios (2,4-DCP), resultando em diminuição da velocidade de remoção de 2,4-DCP (NAMKOONG *et al.*, 1989).

Estudos cinéticos considerando substratos múltiplos são muito limitados. Substratos no meio de cultura podem ser usados seqüencialmente, simultaneamente ou competitivamente. Um modelo cinético para crescimento de determinado organismo em substratos múltiplos apresentou inibição competitiva de um substrato sobre a degradação de outro substrato. Segundo esse modelo, a co-existência de várias espécies em culturas mistas contínuas é possível durante o estado estável, se mais que um substrato estiverem disponíveis (BAE *et al.*, 1995).

BAE *et al.*, 1995, utilizando reator aeróbio de fluxo contínuo e cultura mista, caracterizaram a degradação de compostos fenólicos múltiplos inibitórios, com ajuda de um modelo interativo desenvolvido para substratos múltiplos, baseado na equação de Monod, nas equações de Haldane e nas equações de dois substratos e uma enzima, que assume interações de substratos no crescimento de microrganismos.

Pesquisas têm mostrado que velocidades de utilização de substrato de águas residuárias contendo substratos inibidores, tratadas por reatores de biofilme fixo, são facilmente influenciadas pela distribuição da espessura do biofilme (DEB). Um biofilme muito fino pode ser inibido pelo excesso de substrato, o que não ocorre em biofilme de espessura maior.

Desse modo, a espessura média de biofilme não pode ser apropriadamente empregada para descrever o desempenho de um reator biológico e então o conceito de DEB deve ser adotado para modelação, levando em consideração que um reator com biofilme fixo está composto por biofilmes com várias espessuras, tornando-se a DEB de grande interesse, especialmente para tratamento de águas residuárias contendo compostos inibitórios (JIH & HUANG, 1994).

Os modelos cinéticos são importantes no estudo da capacidade e estabilidade de processos biológicos que utilizam substratos inibitórios. Consórcios metanogênicos apresentam grupos de arqueas interagindo fisiologicamente, para os quais pode ser possível a determinação do efeito da imobilização, na degradação de um substrato inibitório, bem como os parâmetros cinéticos de uma rota metabólica envolvendo mais de uma espécie de bactérias (DWYER *et al.*, 1986).

### **3.9 – Modelagem matemática para reatores biológicos heterogêneos**

Nos processos biológicos, muitas variáveis podem afetar a velocidade da reação global. Em sistemas heterogêneos, as velocidades de transferência de massa são muito importantes, pois, materiais movem-se de uma fase para outra, sendo, portanto, necessárias avaliações das velocidades de transferência de massa e das reações bioquímicas para verificação da etapa limitante. O grande problema é a avaliação das variáveis que afetam cada uma das etapas e, conseqüentemente, a velocidade da reação global (ATKINSON, 1974).

Em sistemas biológicos utilizando células imobilizadas, é importante quantificar as limitações à transferência de massa, visando projetar reatores que apresentem bom desempenho. O desempenho desses reatores está diretamente relacionado com a minimização das limitações à transferência de massa, já que a velocidade da reação global, nesses sistemas líquido-sólido, pode ser reduzida devido às transferências de massa entre as fases. Por outro lado, as limitações à transferência de massa podem também aumentar a velocidade da reação global quando houver presença de substâncias inibidoras no meio, ou quando a velocidade da reação depender de alguma propriedade afetada pela formação de produtos, com o pH (ATKINSON & MAVITUNA, 1987).

A extensão da limitação à transferência de massa depende do tipo de material de imobilização utilizado, da presença de outros constituintes dentro do material suporte (células, matéria orgânica, etc.) e das propriedades físicas do substrato (DWYER *et al.*, 1986).

Segundo DWYER *et al.*, (1986), diferentes estudos têm demonstrado que a difusão de substrato através de água e de agar são aparentemente similares. Contudo, experimentos realizados por esses autores mostraram que uma limitação aparente da transferência de massa ocorreu quando as células foram imobilizadas com agar, já que a velocidade específica máxima de crescimento de microrganismos ( $\mu_{\max}$ ) e a concentração de substrato, na qual  $\mu = \frac{1}{2} \mu_{\max}(K_s)$ , foram diminuídas. Além disso, existem algumas evidências de que a porosidade e as características de difusão em géis similares, como alginatos, podem ser reduzidas pela incorporação de outros compostos dentro da matriz de imobilização. Quanto à produção de metano, as células imobilizadas apresentaram menores velocidades de produção, provavelmente devidas a limitações de transferência de massa do fenol dentro da matriz de agar. As concentrações de fenol estudadas estiveram na faixa de 10  $\mu\text{g/mL}$  a 2.000  $\mu\text{g/mL}$ .

Segundo ZAIAT (1996), a resistência à transferência de massa na fase líquida pode ser significativamente reduzida, pela operação do RAHLF a adequadas velocidades superficiais do líquido. A velocidade inicial de reação aumenta à medida que se aumenta a velocidade superficial do líquido no leito do reator, devido ao decréscimo da camada de líquido estagnada ao redor das biopartículas.

A interpretação e avaliação de resultados obtidos nos diferentes tipos de reatores utilizados em pesquisas relacionadas com tratamento biológico de águas residuárias, muitas vezes são contraditórias, tornando preocupante sua construção em escala real. Essa preocupação baseia-se nas relações complexas entre os diversos parâmetros que governam esse tipo de tratamento.

A modelagem matemática e posterior simulação numérica apresentam-se como ferramentas úteis no dimensionamento e na otimização dos reatores biológicos.

No modelo, devem ser considerados: concentrações limitantes de substratos (quando o processo biológico acontece em reatores com desenvolvimento de biofilme) e a resistência à transferência de massa externa que pode não ser desprezível em sistemas com velocidade de consumo de substrato igual ou superior

à velocidade de transferência de massa externa. A eficiência desses reatores está associada diretamente às características físico-químicas e biológicas da camada de microrganismos que se fixa às partículas do meio suporte, influenciando a cinética do processo estabelecido ao longo da espessura do biofilme (SILVA, 1995).

No tratamento de águas residuárias contendo compostos tóxicos, são utilizados modelos baseados no mecanismo de inibição por substrato.

A equação de Haldane (equação 3.4) e as equações (3.5) e (3.6) são os modelos que melhor representam a inibição por substrato. Essas equações são lineares, e portanto, o ajuste das curvas de regressão linear é sensível às estimativas iniciais dos parâmetros, levando, provavelmente, à obtenção de parâmetros sem significado físico. No entanto, faz-se necessário a utilização de métodos confiáveis para estimativa de parâmetros e diagnósticos estatísticos (WEN *et al.*, 1994). Estes autores recomendam um guia para seleção apropriada de um modelo biocinético, como mostrado na Figura 3.6.

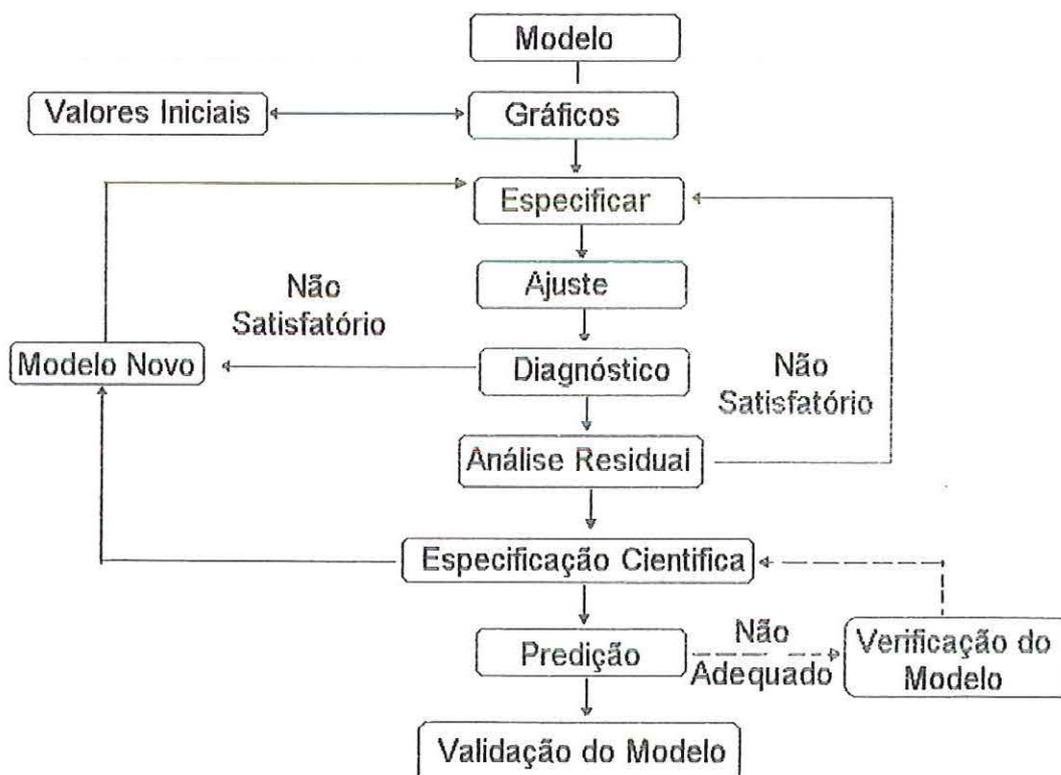


FIGURA 3.6 – Diagrama de fluxo para análise de regressão linear (WEN *et al.*, 1994).

Os autores recomendam as seguintes considerações para aplicação do diagrama :

- A- Seleção de um intervalo de confiança estatístico. É aceitável um intervalo de 95%.
- B- Seleção de valores estatísticos críticos, como os determinados pelos testes de  $R^2$  e  $t$ .
- C- Análise de regressão linear detalhada, como segue:
  - Modelo : examinar todos os modelos biocinéticos possíveis (equações de Haldane e de Haldane modificadas),
  - Gráficos : realizar gráficos exploratórios de  $\mu$  e  $S$  para ajudar na determinação de um modelo biocinético apropriado;
  - Especificação : selecionar o modelo, com base nas recomendações anteriores;
  - Ajuste: ajustar os dados de  $\mu$  e  $S$ , e calcular os parâmetros  $\mu_{max}$ ,  $K_s$ ,  $K_i$  e  $n$  , ajustando os parâmetros a valores limites, minimizando esses limites e usando-os num programa de computador baseado no método numérico de Levenberg Marquart;
  - Diagnóstico: examinar os parâmetros calculados estatisticamente, com base nos testes de  $R^2$  e  $t$ ;
  - Análise residual: determinar a distribuição normal aleatória, com ajuda dos testes de Durbin-Watson e K-S. Uma distribuição normal menor que 5% é aceitável;
  - Validação do modelo: validar o modelo selecionado, com base nas observações experimentais.

### **3.9.1 – Modelagem matemática do Reator anaeróbio Horizontal de Leito Fixo aplicado no tratamento de águas residuárias**

Um Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo de bancada foi utilizado para estimar alguns parâmetros fundamentais utilizados no desenvolvimento do modelo matemático para propósitos de projeto (ZAIAT *et al.*, 2000).

Segundo estudo hidrodinâmico, inicialmente o escoamento foi considerado do tipo pistão ou tubular. Para o caso específico de esgoto doméstico, o consumo de substrato ajustou-se ao modelo cinético de primeira ordem. Essa suposição foi baseada em dados cinéticos da degradação anaeróbia de esgoto doméstico. As

características intrínsecas dessa água residuária e a baixa concentração de matéria orgânica permitiram a representação da velocidade de reação bioquímica através de modelo cinético de primeira ordem. Nesse caso, o processo de degradação anaeróbia total pode ser reduzido a um passo. Esta aproximação simplifica o modelo, já que apenas um parâmetro cinético é necessário para descrever a velocidade de reação bioquímica. Esse parâmetro referencia o passo mais lento da conversão anaeróbia.

Se vários passos da degradação anaeróbia são explicitados, os parâmetros cinéticos de cada passo considerado devem ser fornecidos ao modelo. Nesse caso, os resultados podem não ser satisfatórios, porque identificar cada passo pode ser complicado, resultando, provavelmente, em modelo complexo e de difícil aplicação prática. A necessidade de adotar-se um passo na cinética da degradação anaeróbia foi verificada por ZAIAT *et al.*, (2000). Segundo essas suposições e assumindo condição isotérmica, o balanço de massa do substrato, em estado estacionário, é como segue:

$$E_{COD} = \left\{ 1 - \exp \left[ \frac{-(L/D) \bar{X} k_1 \eta D}{\varepsilon v_s} \right] \right\} \times 100 \quad (3.7)$$

em que:

$E_{COD}$  = eficiência de remoção da demanda química de oxigênio, (%)

$L$  = comprimento do reator, (L)

$D$  = diâmetro do reator, (L)

$K_1$  = constante cinética intrínseca de primeira ordem, (T)<sup>-1</sup>

$\bar{X}$  = concentração de biomassa média dentro do reator, baseada no volume útil, (M).(L)<sup>-3</sup>

$\eta$  = fator de efetividade total

$\varepsilon$  = porosidade do leito

$v_s$  = velocidade superficial do líquido, (L).(T)<sup>-1</sup>

O parâmetro cinético de primeira ordem ( $k_1$  ou  $k_1 \bar{X}$ ) usado no modelo é o parâmetro intrínseco, estimado sob condições de resistência à transferência de massa desprezível. A utilização de parâmetros intrínsecos permite a obtenção de um modelo geral que pode ser aplicado para alguma condição de limitação à transferência de massa. A influência da resistência à transferência de massa, na velocidade da reação

total, é considerada no valor do fator de efetividade, que é função do coeficiente de transferência de massa na fase líquida, da difusividade efetiva do substrato dentro das partículas e dos parâmetros cinéticos intrínsecos.

O fator de efetividade pode ser expressado em termos de variáveis adimensionais, adotando-se cinética de primeira ordem como :

$$\eta = \frac{1}{\phi} \left( \frac{1}{\operatorname{tgh}(3\phi)} - \frac{1}{3\phi} \right) \left\{ \frac{Bi}{[3\phi / \operatorname{tgh}(3\phi)] + Bi - 1} \right\} \quad (3.8)$$

Nesta expressão,  $\phi$  é o módulo de Thiele e  $Bi$ , o número de Biot definido como:

$$\phi = \left( \frac{V_p}{A_p} \right) \sqrt{\frac{k_1 \bar{X}}{D_e}} \quad ; \quad Bi = \frac{k_s R_p}{D_e} \quad (3.9)$$

em que:

$k_1$  = parâmetro cinético de primeira ordem, (T)<sup>-1</sup>

$k_s$  = coeficiente de transferência de massa na fase líquida, (L).(T)<sup>-1</sup>

$\bar{X}$  = concentração média de biomassa, (M).(L)<sup>-3</sup>

$D_e$  = difusividade efetiva do substrato dentro da partícula, (L)<sup>2</sup>.(T)<sup>-1</sup>

$R_p$  = raio da partícula equivalente, (L)

$V_p$  = volume da partícula, (L)<sup>3</sup>

$A_s$  = área superficial da partícula, (L)<sup>2</sup>

O coeficiente de transferência de massa na fase líquida ( $k_s$ ) é função das propriedades físicas do líquido e da sua velocidade superficial. Várias relações para a estimativa de  $k_s$  são apresentadas na literatura. A relação utilizada neste trabalho foi a seguinte (PERRY & CHILTON, 1995):

$$\left( \frac{k_s d_p}{D_L} \right) \left( \frac{\mu_L}{\rho_L D_L} \right)^{-1/3} \left( \frac{\varepsilon v_s \rho_L d_p}{\mu_L} \right)^{-1} = 1,90 \left( \frac{v_s \rho_L d_p}{(1 - \varepsilon) \mu_L} \right)^{-0,50} \quad (3.10)$$

em que:

$d_p$  = diâmetro da partícula, (L)

$D_L$  = difusividade do substrato no meio líquido, (L)<sup>2</sup>.(T)<sup>-1</sup>

$\mu_L$  = viscosidade do líquido, (M).(L)<sup>-1</sup>.(T)<sup>-1</sup>

$\rho_L$  = densidade do líquido, (M).(L)<sup>-3</sup>

$\varepsilon$  = porosidade do leito

$v_s$  = velocidade superficial do líquido, (L).(T)<sup>-1</sup>

### 3.10- Técnicas analíticas utilizadas na determinação de fenol

O monitoramento de efluentes industriais e águas naturais para determinação de concentrações traço de fenóis é necessário porque, além de sua toxicidade esses compostos podem afetar o sabor da água, mesmo a baixas concentrações (LAMPARSKI & NESTRICK, 1978).

Fenóis em solução aquosa podem ser determinados pelo método colorimétrico da 4-aminoantipirina. Esse método determina fenóis cujas posições *orto* e *meta* podem ser substituídas. Sob condições adequadas de pH, os fenóis podem ser substituídos na posição *para*, pelos grupos carboxil, halogênio, metoxil ou sulfônico. Esse método colorimétrico não determina fenóis que podem ser substituídos na posição *para* por grupos alquil, aril, nitro, benzoil, nitroso e aldeído. O paracresol é um exemplo típico desses últimos grupos, podendo estar presente em águas residuárias poluídas (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1995).

O método colorimétrico quantifica, além do fenol presente nas amostras analisadas, outros compostos fenólicos. Uma vez que a substituição geralmente reduz a intensidade da resposta, esse valor representa a concentração mínima de compostos fenólicos analisados.

Métodos de separação, especialmente cromatografia gasosa e líquida, apresentam grande importância na determinação de resíduos de pesticidas, seus metabólitos e produtos de transformação em ambientes aquáticos. A determinação de resíduos de pesticidas na água e no solo é de interesse para obter-se informações ambientais sobre possíveis problemas de fitotoxicidade em rotação de safras (HATRÍK & TEKEL', 1996).

Os métodos cromatográficos são importantes porque facilitam a determinação individual de compostos fenólicos, fornecendo ferramentas importantes como quantidade de compostos orgânicos tóxicos presentes nos diferentes tipos de águas residuárias, permitindo, assim, estabelecer condições para o bom desempenho dos processos biológicos.

No entanto, os métodos analíticos normalmente utilizados baseiam-se na extração líquido-líquido. A extração líquido-líquido de fenóis frequentemente apresenta dificuldade causada pela sua alta solubilidade em água. Esses métodos requerem a acidificação da amostra, seguida por extração em diferentes solventes (como cloreto de metila) e análise por cromatografia gasosa com detecção de ionização de chama (CG/FID) ou espectrometria de massa (CG/MS). Perdas analíticas potenciais ocorrem na limpeza e procedimento de extração da amostra. As recuperações típicas apresentam-se na faixa de 40% a 89%, e precisão variando amplamente com um desvio relativo de 38% a 64%. A realização da técnica de extração líquido-líquido, além de requerer tempo relativamente longo, faz uso de solventes tóxicos e caros, não recomendáveis por razões de saúde, de economia e de disposição no ambiente (BUCHHOLZ & PAWLISZYN, 1993).

A microextração em fase sólida apresenta-se como uma solução aos problemas citados anteriormente, já que elimina o uso de solventes do processo de extração. É um método rápido e simples, capaz de detectar os limites dos métodos padrões normalmente utilizados. Essa técnica tem sido utilizada em muitas aplicações ambientais, como detecção de benzenos substituídos em água e “headspace”, compostos clorados e bifenilas policloradas (PCBs) em água (BUCHHOLZ & PAWLISZYN, 1993).

### 3.11 - Considerações finais

Pesquisas utilizando reatores anaeróbios com biomassa imobilizada para o tratamento de águas residuárias contendo fenol, são recentes e pouco numerosas, segundo a revisão bibliográfica e o resumo apresentado na Tabela 3.4.

Características como partida rápida, fácil adaptação e colonização da biomassa no leito fixo, comportamento semelhante a reator com regime de fluxo a pistão, tornam o Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) adequado para o tratamento de águas residuárias contendo compostos tóxicos

Este trabalho pretende verificar a possibilidade de degradação de compostos tóxicos como o fenol, por processo anaeróbio, utilizando-se reator de leito fixo com biomassa imobilizada (RAHLF) em espuma de poliuretano, desenvolvido na EESC-USP, e operado com parâmetros utilizados na literatura, para facilitar a comparação

dos resultados e avaliar a possibilidade de sua utilização no tratamento de águas residuárias fenólicas.

**TABELA 3.4 -- Características de algumas pesquisas sobre degradação de fenol por processo anaeróbio.**

Tipo de reator	Volume do reator (ml)	Concentração de fenol (mg/L)	Tempo de detenção* (h)	Remoção (%)	Fonte
1. Batelada	125	200 – 800	-	-	Young & Rivera, 1985
2. Batelada	250	100 - 150	-	-	Beaudet <i>et al.</i> , 1986
3. Reator anaeróbio de leito expandido	11 L	358, 716, 1432, 2864	24	99,9	Wang <i>et al.</i> , 1986
4. Batelada alimentada	20, 120, 1000	200 – 941	12	-	Knoll & Winter, 1987
5. Reator anóxico de fluxo ascendente leito fixo, filme fixo	50	250	48	86	Godbole <i>et al.</i> , 1991
6. Reator de filme fixo	250	4 – 6	5; 3,8; 2,9	60 – 85 (sem glicose) 90 – 100 (com glicose)	Hendrikksen <i>et al.</i> , 1991
7. Batelada	100	1500	-	-	Hanaki <i>et al.</i> , 1994
8. Reator anaeróbio de fluxo ascendente, leito fixo, filme fixo	500	250	2 - 4	80 - 90	Latkar & Chakrabarti, 1994
9. Batelada alimentada CAG, RAI, RCI	58	490	25 dias	-	Kindzierski <i>et al.</i> , 1995
10. Batelada	100	151	-	-	Lépine <i>et al.</i> , 1996
11. UASB	2800 (volume líquido)	1287	12	97	Fang <i>et al.</i> , 1996
12. UASB - Aeróbio	200 (volume líquido)	500 – 1000	24	76 – 86 (Aná. 8 – 10)	Kettunen <i>et al.</i> , 1996
13. Batelada	60, 160	47 – 141	-	-	O'connor & Young, 1996

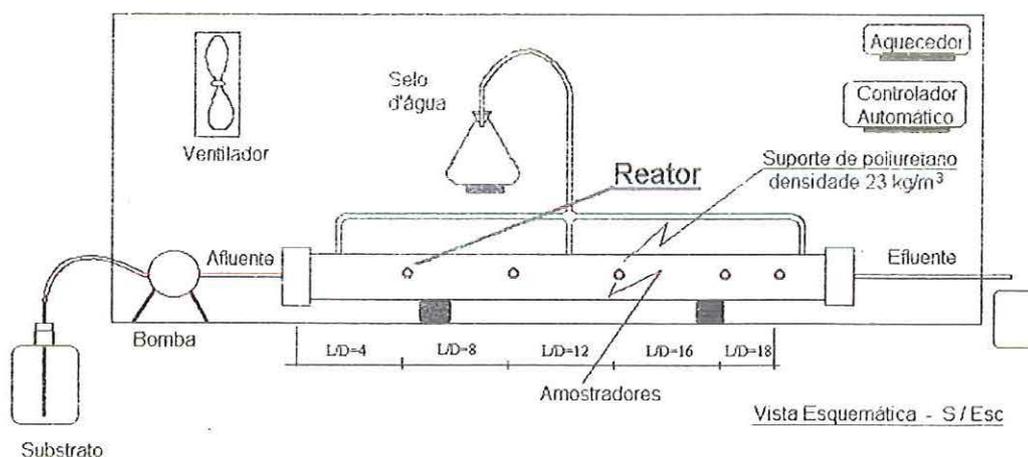
\* Em relação ao volume líquido do reator

## 4 - MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 – Descrição do Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF)

O Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF), em escala de bancada, foi confeccionado em vidro boro silicato, com 100 cm de comprimento e 5,04 cm de diâmetro, perfazendo uma relação comprimento por diâmetro (L/D) de aproximadamente 20. A captação do gás gerado foi feita na parte superior, com uma mangueira acoplada externamente, ao longo do comprimento do reator. A produção de gás foi monitorada por dispositivo de deslocamento de líquido. O esquema das instalações experimentais para ensaios com RAHLF está apresentado na Figura 4.1.

O reator possuiu volume total de 1995 ml, sendo 1197 ml (60% do total) o volume útil reacional e 798 ml (40% do total) destinados ao escoamento do líquido. Amostradores intermediários ao longo do comprimento do reator foram alocados em posições correspondentes a L/D de 4, 8, 12, 16 e 18.



**FIGURA 4.1 – Esquema de Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) em escala de bancada.**

## **4.2 – Operação do reator**

O reator foi operado durante aproximadamente 8 meses, com vazão constante de 0,018 ml/s, o que equivale a um tempo de detenção hidráulica com relação ao volume líquido do reator de cerca de 12,3 horas, como aplicado por FANG, *et al.*, (1996). Todos os ensaios foram realizados à temperatura controlada de  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

### **4.2.1 – Composição do substrato**

O meio utilizado para alimentação do reator estava composto de sais e vitaminas e a fonte carbono, de acordo com ANGELIDAKI *et. al.*, (1990) e modificado por DAMIANOVIC (1997), cuja composição está apresentada na Tabela 4.1.

### **4.2.2 – Suporte e imobilização do lodo anaeróbio**

Como suporte de imobilização do lodo anaeróbio foram utilizadas matrizes cúbicas de espuma de poliuretano, com densidade de  $23 \text{ kg/m}^3$ , cedida pela EDMIL-Indústria e Comércio Ltda. A espuma foi cortada na forma de cubos com 5 mm de lado, aproximadamente.

Lodo granulado proveniente de um reator de fluxo ascendente, UASB, de uma indústria de reciclagem de papel, foi macerado e peneirado. A mistura da espuma de poliuretano e do lodo macerado foi deixada em repouso por 24 horas para imobilização do lodo anaeróbio de acordo com metodologia proposta por ZAIAT *et al.*, (1994).

### **4.2.3 – Partida do reator**

Após imobilização do lodo anaeróbio, o reator foi inoculado, dando-se início à operação do sistema. Para atingir condições operacionais estáveis, o reator inicialmente foi operado com DQO em torno de 500 mg/L, que foi aumentada gradualmente até alcançar um valor na faixa de 1230 mg/L. Esses valores de DQO foram obtidos através da dosagem controlada das fontes de carbono apresentadas na Tabela 4.1.

A partir desse momento, o aporte de DQO devido a essas fontes de carbono foi interrompido, sendo substituída pelo carbono proveniente do fenol. Inicialmente o

TABELA 4.1 – Composição da água residuária sintética.

Componente	Concentração da solução (mg/L)
<b>1. Meio basal</b>	
1.1- Solução macro	
NaCl	100
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	100
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	50
1.2 – Solução de Nitrogênio e potássio	
NH <sub>4</sub> Cl	100
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O	400
1.3 – Solução de metais e selenito	
FeCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	2,0
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,05
ZnCl <sub>2</sub>	0,05
CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,038
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,05
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> No <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,05
AlCl <sub>3</sub>	0,05
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,05
NiCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,092
EDTA	0,50
HCl concentrado	0,001 ml/L
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,100
<b>2. Solução de vitaminas</b>	
D-biotina	9,0 * 10 <sup>-3</sup>
Ácido fólico	22,5 * 10 <sup>-3</sup>
Ribiflavina	22,5 * 10 <sup>-3</sup>
Hidrocloreto de tiamina	22,5 * 10 <sup>-3</sup>
Cinocobolamina	22,5 * 10 <sup>-3</sup>
Ácido p-aminobenzoico	22,5 * 10 <sup>-3</sup>
Ácido tiócico anidro	22,5 * 10 <sup>-3</sup>
Hidrocloreto de pirodonina	45,0 * 10 <sup>-3</sup>
<b>3. Extrato de levedura</b>	
	0,5
<b>4. fontes de carbono</b>	
Glicose	300
Ácido acético	300
Ácido fórmico	1700
<b>5. Solução tampão</b>	
NaHCO <sub>3</sub>	5200
<b>6. Solução redutora</b>	
Na <sub>2</sub> S.9H <sub>2</sub> O	218

Fonte : ANGELIDAKI, 1990.

fenol foi adicionado em concentrações baixas, aumentando-se gradativamente de acordo com a resposta do reator, até alcançar a concentração limite do experimento.

No desenvolvimento do experimento, a DQO originada por estas fontes foi mantida constante, até o reator atingir condições estáveis com relação à sua operação e população microbiana presente.

#### 4.2.4 – Fases do experimento

Neste experimento, a concentração de fenol aplicada ao reator variou na faixa entre 50 mg/L a 1200 mg/L, acompanhando a resposta do reator. A operação do reator foi dividida em fases que tiveram durações aproximadas de trinta dias. Essas fases estão apresentadas na Tabela 4.2.

**TABELA 4.2– Fases experimentais.**

Fase	Concentração de fenol no afluente (mg/L)
I	50
II	100
III	300
IV	600
V	900
VI	1200

#### 4.2.5 – Procedimento de coleta e análise de amostras

As análises das amostras realizadas durante a operação do reator e a periodicidade das mesmas estão esquematizadas na Tabela 4.3. As amostragens foram feitas nos pontos intermediários, na entrada e saída do reator, objetivando permitir avaliações de desempenho ao longo do comprimento do reator.

Para monitorar o RAHLF foram realizadas análises de pH e DQO de acordo com a AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (1995). Ácidos voláteis totais (AVT), como ácido acético (HAc), foram analisados de acordo com metodologia descrita por DILLALO & ALBERTSON (1961) (Anexo A) e alcalinidade, como  $\text{CaCO}_3$ , conforme metodologia descrita por RIPLEY *et al.*,

(1986) (Anexo B). Com estes resultados foi calculada a relação alcalinidade a ácidos voláteis e alcalinidade a bicarbonato (AI/AP), (Anexo C).

**TABELA 4.3 – Análises realizadas e frequência de coletas.**

Análises	Frequência
Temperatura	Diária
pH	Diária
Fenol	3 × semana
DQO	2 × semana
Alcalinidade/Ácidos	2 × semana

#### 4.2.5.1 – Metodologia para determinação de fenol

A concentração de fenol foi determinada através de análise cromatográfica, desenvolvida no Laboratório de Processos Biológicos – Setor Cromatografia da EESC da USP, nas seguintes condições:

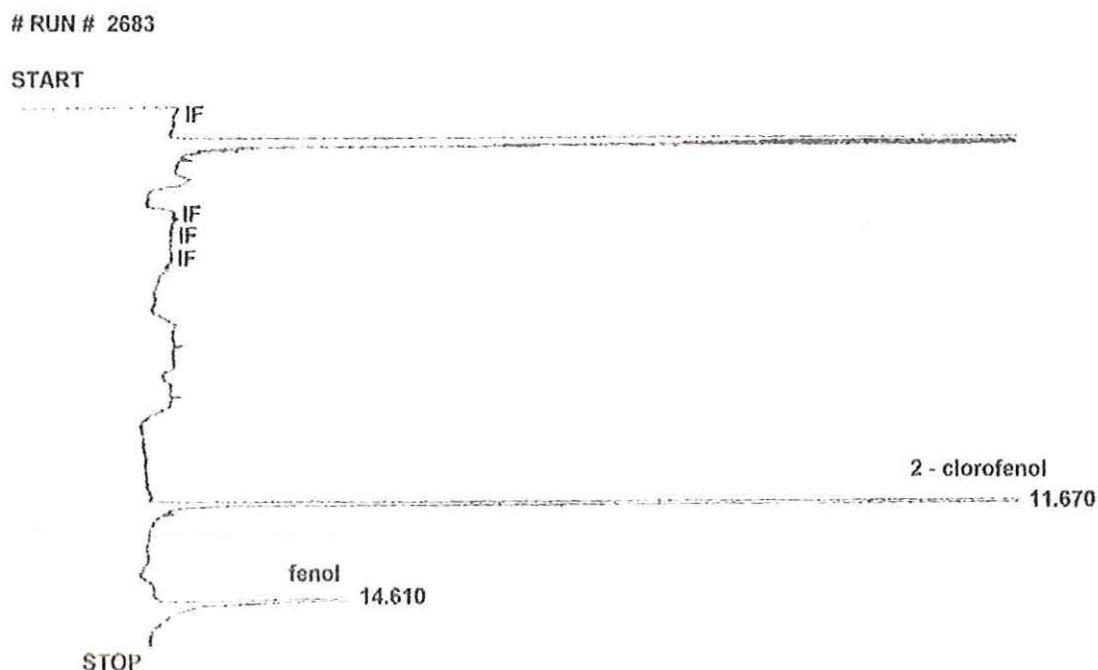
- Cromatógrafo gasoso HP 6890/FID;
- Coluna HP INNOWAX – 30 m × 0,25 mm (diâmetro interno) × 0,25 µm de espessura de filme;
- Temperatura do injetor = 250°C; Temperatura do detector = 300°C (H<sub>2</sub> = 30 ml/min, ar sintético = 300 ml/min, N<sub>2</sub> = 33 ml/min. Range = 1).
- Temperatura do forno = 100 °C (3 min), 180 °C (15 min), 5 °C / min. O fluxo do gás de arraste foi 2,0 ml/min.

A injeção de amostras aquosas danifica as colunas cromatográficas usadas nessa análise, por isso fez-se uma extração de fenol das amostras com éter etílico, previamente purificado por destilação, e injetou-se apenas a fase orgânica no cromatógrafo.

Na realização da extração a 2,0 ml de amostra foram adicionados cerca de 1,0 g de NaCl, 50 µL de solução de 2-clorofenol (909 mg/L), 0,5 ml de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - 1M e 0,6 ml de éter etílico. A mistura dessas soluções foi agitada no vórtex por 1 min, centrifugado por 1 min e finalmente injetados 1,0 µL da fase etérea.

A quantificação do fenol foi realizada pelo método de padronização interna, utilizando-se 2-clorofenol. Foram construídas curvas de calibração com concentrações conhecidas de fenol, preparadas com água residuária sintética.

A Figura 4.2 apresenta um cromatograma mostrando os tempos de retenção do fenol e do 2 – clorofenol.



**FIGURA 4.2 – Cromatograma mostrando os tempos de retenção do fenol e do 2 – clorofenol.**

#### 4.2.6 – Análise de biogás

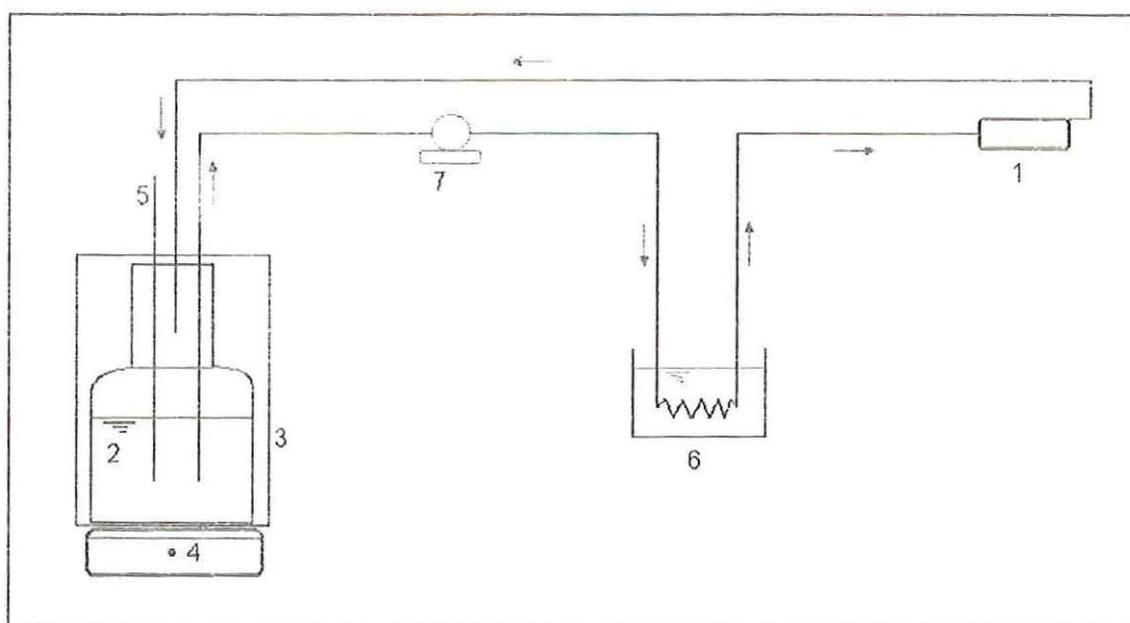
Para avaliar a influência do fenol na produção de metano, foi medida a composição de biogás uma vez por semana, em cromatógrafo a gás, marca Gow-Mac série 150. A coluna utilizada foi Porapak-Q (comprimento de 2 metros e diâmetro interno de 1/4" - 80 a 100 mesh), detector de condutividade térmica. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio super seco (White Martins), e o integrador HP 3396 série II. As condições de operação dos aparelhos foram: vazão do gás de arraste 1 ml/s; temperatura do detector, coluna e injetor, 55°C; corrente 150 mA; volume de injeção de 500 µL.

#### 4.2.7 – Exames microbiológicos do lodo

Amostras de biopartículas foram retiradas através dos amostradores intermediários do reator, ao final de cada fase do experimento, e foram realizados exames microscópicos para caracterização da biomassa anaeróbia imobilizada. Esses exames foram realizados por microscopia ótica comum (MOC), de contraste de fase e fluorescência, empregando-se microscópio Olympus modelo BH-2 (objetiva 100, ocular 10, zoom 1,25).

#### 4.2.8 – Descrição do Reator Diferencial para avaliar a influência da velocidade superficial de líquido ( $V_s$ ) sobre a velocidade de consumo de substrato

A avaliação da influência da velocidade superficial de líquido ( $V_s$ ), sobre a velocidade de consumo de substrato, foi realizada utilizando-se um reator diferencial com volume de 15,0 ml e 2,5 cm de comprimento, como apresentado na Figura 4.3, e conforme metodologia descrita por ZAIAT (1996). Nesse sistema, o substrato foi recirculado em circuito fechado.



**FIGURA 4.3 – Aparato experimental para avaliação da influência da velocidade superficial de líquido ( $V_s$ ) sobre a velocidade de consumo de substrato. (1) Reator diferencial; (2) Tanque agitado; (3) Banho de gelo; (4) Agitador magnético; (5) Amostrador; (6) trocador de calor; (7) Bomba**

O reator diferencial foi preenchido com biopartículas de espuma de poliuretano obtidas do RAHLF, utilizado no tratamento de água residuária sintética contendo fenol. No primeiro experimento, foi utilizado meio conforme descrito na Tabela 4.1, sem adição de fontes de carbono e nos demais experimentos foi adicionado fenol como única fonte de carbono nas concentrações de 100 mg/L, 300 mg/L e 600 mg/L. *→ novo (X) (h. >)*

Foram bombeados 800 ml de substrato a partir do tanque agitado para o reator diferencial. Antes de entrar no reator, o substrato foi aquecido a 30 °C, retornando ao tanque, mantido a 5 °C, para minimizar a ocorrência de reações bioquímicas fora do reator.

O reator diferencial foi submetido a diferentes valores de vazão, permitindo a aplicação de diferentes  $V_s$ . Cada experimento teve duração de 8 horas e 15 ml de amostras foram tomadas a cada 2 horas para determinação da concentração de fenol. Essa quantidade de amostra permitiu que apenas 8% do volume líquido total fosse alterado durante o período experimental. Portanto, para cada  $V_s$  aplicada, foi possível obter o perfil temporal de concentração de fenol na fase líquida, expressa como mg/L.

No final de cada experimento, determinou-se a massa total de SSV imobilizados no reator, após remoção dos sólidos aderidos à espuma. A remoção do sólido foi efetuada com a lavagem das espumas em uma seringa de 20 ml, com 100 ml de água destilada. A concentração de biomassa (X) foi obtida pela razão entre a massa de SSV medida e o volume líquido total no sistema.

Aos perfis temporais de concentração de fenol foram ajustadas expressões utilizando-se programa computacional Excel 2000<sup>®</sup>, o que permitiu a obtenção das velocidades globais de consumo de substrato observadas para cada  $V_s$  aplicada.

#### 4.2.9 – Inativação da biomassa imobilizada

O teste de inativação foi realizado para garantir condições de ausência de reações bioquímicas no ensaio de adsorção e assim poder verificar a efetiva degradação de fenol no RAHLF e a capacidade de adsorção ou acúmulo desse composto no lodo imobilizado.

No primeiro teste, foi retirada biomassa imobilizada do RAHLF, para ser inativada com solução de etanol 50% (v/v), de acordo com VELA *et al.*, (1999), antes da realização do ensaio cinético, na fase em que o reator recebia solução com concentração de 300 mg/L de fenol. A biomassa retirada do RAHLF foi deixada em repouso por 48 horas com a solução de etanol, VELA *et al.*, (1999) fez o mesmo procedimento para diferentes tempos de repouso e com adição de diferentes substratos.

O segundo teste, de inativação da biomassa presente no RAHLF foi realizado mediante retirada de biopartículas de espuma de poliuretano (30 em total), as quais foram expostas à luz ultravioleta (UV), por 40 e 90 minutos. Nesse momento, o RAHLF estava sendo operado com a concentração de fenol de 600 mg/L.

Após finalizados os tempos de inativação, foram inoculados reatores para ensaios de atividade metanogênica em frascos de antibiótico de 30 mL, objetivando verificar a eficiência do método utilizado para inativar as biopartículas.

Reatores, em triplicata, foram inoculados cada um com cinco biopartículas de espuma de poliuretano expostas a 40 minutos de luz UV, contendo fenol como única fonte de carbono. Outros três reatores foram inoculados cada um, com cinco biopartículas de espuma de poliuretano expostas a 90 minutos de luz UV, sendo dois, com fenol como única fonte de carbono, e um, com acetato como fonte de carbono.

Foi utilizado meio Zinder, de acordo com metodologia utilizada no Laboratório de Microbiologia da EESC da USP. Foram adicionadas também solução de vitaminas, de bicarbonato, redutora e as fontes de carbono.

Os reatores foram manipulados sob condições de assepsia estrita. Foi fluxionado N<sub>2</sub>, para garantir condições de anaerobiose.

Condo 01/2

O volume total da fase líquida foi de 20 mL e o “headspace” de 10 mL. Os reatores foram mantidos em câmara com temperatura de  $30 \pm 1$  °C e monitorados por sessenta dias, aproximadamente. Ensaio de atividade metanogênica, com reatores sem biomassa inativada utilizados como brancos, foram realizados para estabelecer comparação dos resultados.

#### 4.2.10 – Avaliação da adsorção de fenol

##### 4.2.10.1 – Adsorção no meio suporte

Esse teste foi proposto para avaliar a capacidade de adsorção de fenol pelo meio suporte. O teste foi realizado em reator diferencial, de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.8, para concentração de fenol de 600 mg/L no substrato, com pH 8,0, próximo, ao pH obtido no RAHLF. Oitenta cubos de espumas de poliuretano, equivalentes à massa de 0,207 g, foram colocadas no reator diferencial.

##### 4.2.10.2 – Adsorção no lodo imobilizado

A determinação de fenol no lodo imobilizado teve como finalidade avaliar sua capacidade de acúmulo desse composto.

Amostras do lodo imobilizado foram retiradas dos pontos de amostragem do RAHLF, 16 espumas de cada ponto. A biomassa foi inativada com etanol 50% (v/v), de acordo com metodologia descrita por VELA *et al.*, (1999) para verificar adsorção do fenol.

Após, foi realizado o ensaio de adsorção com biomassa imobilizada, como descrito no item 4.2.8 para a concentração de fenol de 300 mg/L. Esse ensaio teve a duração de 40 horas.

Depois desse período de operação, foram retiradas 9 espumas do reator diferencial, para realização de testes em triplicata, segundo a seguinte metodologia:

As amostras foram colocadas em tubos de ensaio, contendo 10 ml de solução alcalina de NaOH - 0,1 M. As amostras foram agitadas vigorosamente e os cubos de espuma comprimidos contra as paredes dos tubos, utilizando bastão de vidro, visando o desprendimento do material visivelmente adsorvido. A espuma permaneceu em contato com a solução de NaOH por 30 minutos, à temperatura de 40 °C. O conteúdo

do tubo de ensaio foi posteriormente centrifugado por 3 minutos, a 16000 rpm, separando assim, a parcela de sólidos. A solução foi transferida para outro tubo, sendo depois tratada como descrito no item 4.2.5.1.

#### **4.2.11 – Cinética de degradação do fenol no RAHLF**

Para avaliar a cinética de degradação do fenol, foram realizados perfis de concentração do mesmo ao longo do reator. O perfil para cada concentração de fenol aplicada ao reator, foi realizado quando o sistema apresentava estabilidade do processo e antes de modificar a condição de operação.

Através de regressão linear pelo aplicativo Microcal Origin 5.0<sup>®</sup>, obteve-se o valor da constante cinética aparente de primeira ordem ( $K_1^{app}$ ) para cada uma das concentrações de fenol estudadas.

## 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 – Inoculação e manutenção do RAHLF em ausência de fenol

Inicialmente, o reator foi operado com uma mistura lodos provenientes de reatores tratando esgoto sanitário e resíduos de uma indústria de alimentos. O substrato sintético utilizado continha como fontes de carbono: glicose, ácido acético e ácido fórmico, responsáveis por uma DQO total de 509 mg/L. A concentração de biomassa inoculada ao sistema foi 27,83 g/L de SSV. O TDH aplicado foi de 7,7 horas. O reator permaneceu nessa condição por um mês, apresentando remoção de DQO na faixa de 70%.

Então, a DQO foi aumentada para 764 mg/L e o TDH para 10 horas. A eficiência de remoção caiu para 40%, mas rapidamente foi recuperada. Passados 15 dias nessa condição, o reator apresentava porcentagem de remoção de DQO de 70%.

Depois desse tempo, a DQO passou para 1028 mg/L. Inicialmente, a porcentagem de remoção de DQO caiu para 42%, mas lentamente foi aumentando, chegando a uma remoção de 56%. A porcentagem de área de metano, sempre esteve na faixa de 12% a 14%.

Como o reator não estava nas condições ótimas para iniciar a adição de fenol, já que a remoção de DQO apresentava um valor baixo, para alcançar-se os objetivos do trabalho, tentou-se melhorar seu desempenho, aumentando-se o TDH para 15 horas, mantendo-se como fontes de carbono, somente glicose e ácido acético. Nessa condição, o reator mostrou sua eficiência de remoção de DQO reduzida (34%) e confirmou-se que a DQO efluente estava representada principalmente pelos ácidos voláteis, já que seus valores foram similares, condição que não é recomendável sendo que a fração de ácidos voláteis na DQO deve ser pequena, em efluentes de reatores anaeróbios operando com bom desempenho.

Biopartículas de espuma de poliuretano foram submetidas à caracterização microbiológica, observando-se a predominância de arqueas metanogênicas enfraquecidas, com estrutura delgada e comprida, que perdiam a fluorescência rapidamente. Conclui-se que o inóculo utilizado era um lodo metanogênico pobre, quanto à densidade e à diversidade populacional, e que o enriquecimento realizado não havia melhorado suas características iniciais.

Essa situação confirmou que o desempenho do sistema estava comprometido, motivo pelo qual tomou-se a decisão de reinocular o reator com outro tipo de inóculo.

### **5.2 – Reinoculação e manutenção do RAHLF em ausência de fenol**

Nessa fase do experimento, o reator foi inoculado com lodo obtido de reator anaeróbico da Indústria de Papel São Carlos. O substrato sintético continha, como fontes de carbono, glicose, ácido acético e ácido fórmico, gerando no total, uma DQO de 509 mg/L. O TDH aplicado ao sistema foi de 12 horas e a concentração de biomassa inoculada no sistema foi de 59,3 g/L de STV.

Com essa condição de operação, o reator atingiu em 23 dias, a eficiência de remoção de DQO de 85%, e condição de operação estável. Após, a DQO foi aumentada para 1028 mg/L, provocando diminuição da eficiência de remoção de DQO para 70%.

Visando conseguir o aumento na eficiência de remoção de DQO, a alimentação do reator foi desligada por 36 horas, procurando-se conseguir maior estabilização ou permanência do substrato dentro dele.

A alimentação do reator foi iniciada com DQO de 509 mg/L; a solução redutora de Na<sub>2</sub>S foi retirada e colocada uma solução de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para fornecer enxofre ao processo numa concentração de 26 mg/L e estimular o crescimento dos microrganismos, o TDH permaneceu o mesmo. Uma hora depois, novo perfil de DQO, mostrou que a eficiência de remoção de DQO estava em 79%. Nessa condição, a eficiência de remoção de DQO começou a aumentar gradativamente, até chegar a 86%. Aumentando-se a DQO afluyente para 764 mg/L sua remoção estabilizou-se em 90% e com a DQO de 1028 mg/L, a eficiência de remoção atingiu a porcentagem de 97%.

Nesse momento, o reator estava em condição operacional estável e adequada imobilização da biomassa, características ótimas para iniciar a adição de fenol.

### **5.3 – Início da adição de fenol ao reator**

Tentando simular em escala de bancada, o que acontece na natureza, com relação a descargas de compostos orgânicos tóxicos em corpos receptores de água, e objetivando enquadrar este trabalho na área de biorremediação, as fontes de carbono que estavam sendo adicionadas ao reator, foram substituídas por fenol.

Isto foi feito para visualizar a possibilidade de utilização da Biotecnologia Microbiana ao Saneamento Ambiental, tentando avaliar as melhores condições do crescimento microbiano, e adotá-las nos sistemas de tratamento em reatores “in situ”.

### **5.4 – Avaliação da degradação de fenol no RAHLF**

#### **5.4.1 – Parâmetros físico-químicos analisados durante o período de adição de fenol**

##### **5.4.1.1 – pH, alcalinidade e temperatura**

O aumento da concentração de fenol no reator foi gradativo, de acordo com a resposta de adaptação do mesmo à concentração aplicada. Por tanto, o experimento foi dividido em seis fases.

Para a melhor visualização do comportamento do reator, com respeito a cada um dos parâmetros analisados, as fases foram estudadas em conjunto e calculados o valor médio, desvio padrão, coeficiente de variação e analisados os valores máximo e mínimo de cada parâmetro.

A Tabela 5.1 apresenta a análise estatística do comportamento do reator com respeito ao pH.

A Figura 5.1 apresenta os gráficos dos valores encontrados de pH para cada fase do experimento.

Observa-se que, no decorrer do experimento, os valores de pH oscilaram entre 7,8 e 8,6, como mostrado na Tabela e na Figura 5.1, indicando que esse parâmetro esteve dentro da faixa considerada ótima para os processos de digestão anaeróbia.

No entanto, observa-se que as maiores variações ocorreram na quarta fase do experimento, quando a concentração de fenol foi aumentada para 634 mg/L, em que o desvio padrão foi de 0,22 e o coeficiente de variação de 2,71%. Essa situação apresentou-se também nas quinta e sexta fases, com desvios padrão de 0,12 e 0,15 e coeficientes de variação de 1,51 e 1,88, respectivamente. Nessas fases, apresentaram-se os menores valores de pH no efluente, mantendo-se, contudo, valores adequados, para o bom funcionamento do processo.

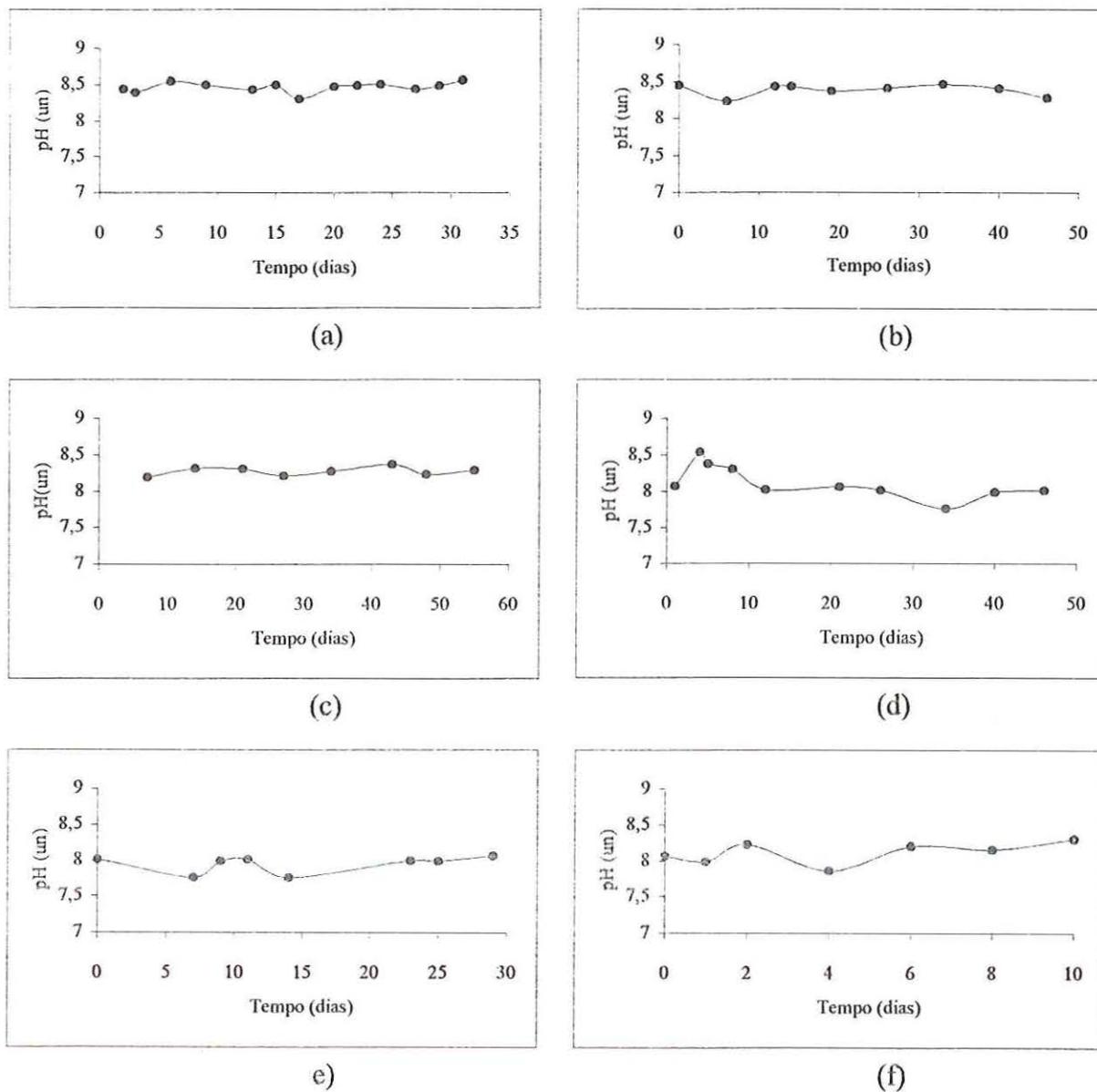
**TABELA 5.1 – Análise estatística do comportamento do RAHLF com respeito ao pH (un) efluente.**

Fase	Concentração. de fenol (mg/L)	pH máx.	pH min.	pH méd.	DP	CV (%)
I	50,2	8,6	8,3	8,5	0,07	0,82
II	102	8,5	8,2	8,4	0,08	0,95
III	309	8,4	8,2	8,3	0,06	0,73
IV	634	8,5	7,8	8,1	0,22	2,71
V	906	8,1	7,8	7,9	0,12	1,51
VI	1203	8,2	7,9	8,1	0,15	1,88

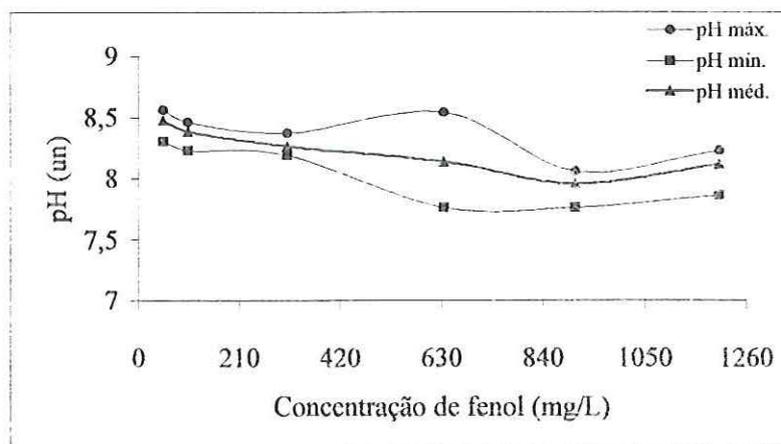
DP = desvio padrão

CV = coeficiente de variação

Considera-se que as variações apresentadas nos valores do pH não foram significativas e provavelmente ocorreram devido a erros sistemáticos ou analíticos. Portanto, pode-se dizer que o incremento da concentração do fenol no RAHLF não influenciou no comportamento do pH. A variação do pH, em função das concentrações de fenol estudadas, pode ser observada na Figura 5.2.



**FIGURA 5.1 – Comportamento do pH efluente nas diferentes concentrações de fenol aplicadas no experimento. Fase I : 50,2 mg/L (a); Fase II : 102 mg/L (b); Fase III : 309 mg/L (c); Fase IV : 634 mg/L (d); Fase V : 906 mg/L (e); Fase VI : 1203 mg/L (f).**



**FIGURA 5.2 – Variações do pH máximo, mínimo e médio efluente com relação às concentrações de fenol estudadas.**

Com relação ao comportamento da alcalinidade no reator, relacionada à adição de fenol, será analisada a alcalinidade a bicarbonato, principal íon responsável pela alcalinidade presente no meio.

A Tabela 5.2 apresenta a análise estatística do comportamento do reator com respeito à alcalinidade a bicarbonato.

**TABELA 5.2 – Análise estatística do comportamento do RAHLF com respeito à alcalinidade a bicarbonato ( $\text{mg CaCO}_3/\text{L}$ ) efluente.**

Fase	Concentração de fenol (mg/L)	Alc. máx.	Alc. min.	Alc. méd.	DP	CV (%)
I	50,2	3060	2886	2985	63	2,11
II	102	3353	2795	3187	174	5,46
III	309	2913	2422	2703	188	6,96
IV	634	2510	2358	2434	61	2,51
V	906	2695	2362	2523	128	5,07
VI	1203	2540	2494	2503	36	1,44

DP = desvio padrão

CV = coeficiente de variação

A Figura 5.3 apresenta os gráficos dos valores encontrados da alcalinidade a bicarbonato para cada fase do experimento.

Na primeira fase do experimento, a alcalinidade a bicarbonato apresentou desvio padrão de 63 e coeficiente de variação de 2,09%, indicando que a variação entre os resultados medidos foi relativamente pequena, provavelmente devida à estabilização apresentada pelo sistema, quando foi iniciada a alimentação do reator com fenol indicando que o comportamento do sistema não foi afetado significativamente.

Na segunda fase do experimento, quando foram adicionados 102 mg/L de fenol ao reator, observou-se um pequeno aumento no consumo da alcalinidade. O desvio padrão nessa fase do experimento aumentou para 174 e o coeficiente de variação para 5,46%.

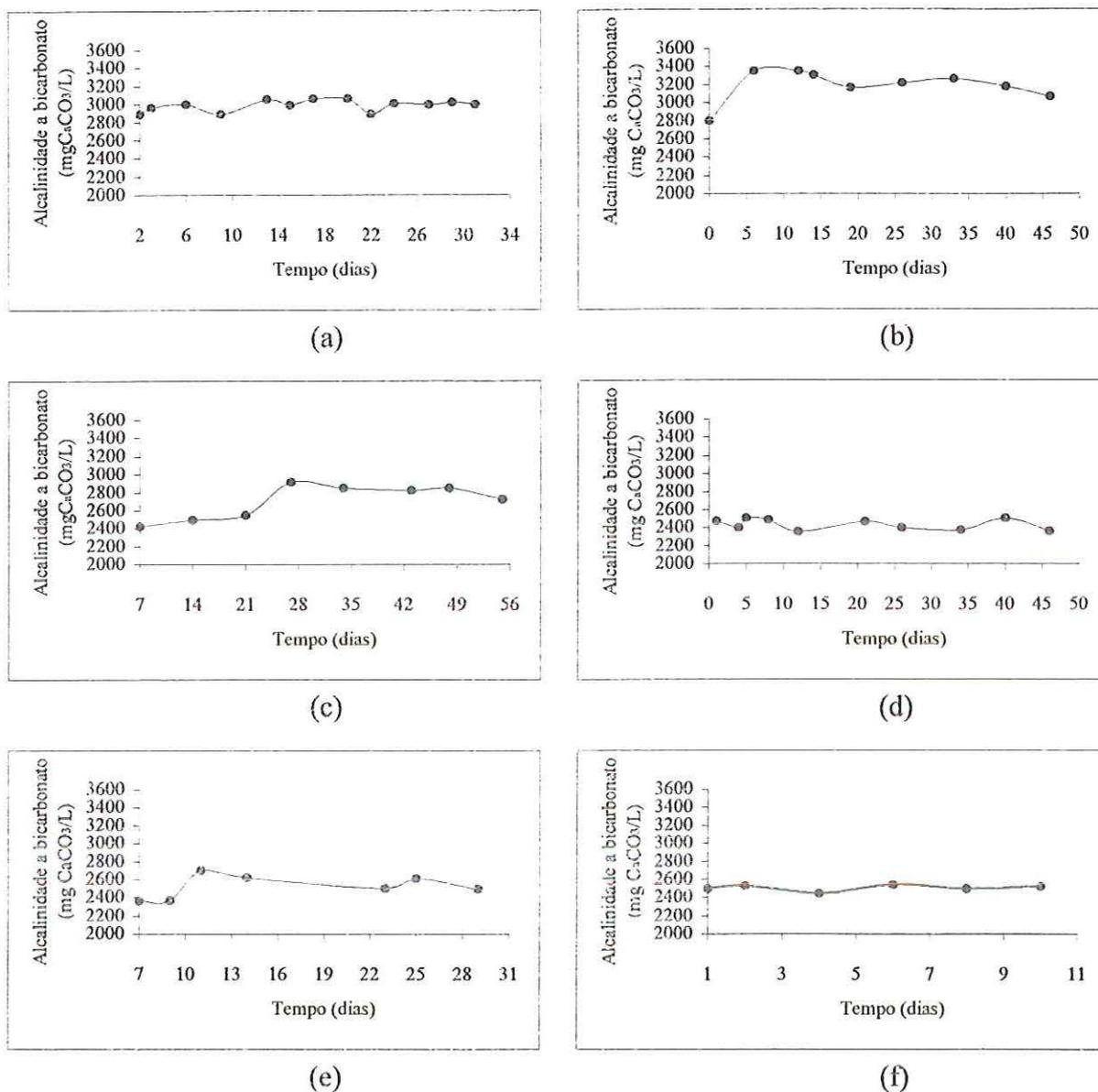
Como um reator operado, em condição estável, converte rapidamente os ácidos voláteis a metano, minimizando o uso de tampão, o pequeno aumento no consumo da alcalinidade nessa fase, indica provavelmente que o equilíbrio do reator foi afetado devido ao aumento da concentração de fenol.

Quando adicionados 309 mg/L de fenol ao reator, na terceira fase do experimento, o consumo da alcalinidade diminuiu. No entanto, o desvio padrão e coeficiente de variação aumentaram para 188 e 6,97%, respectivamente, indicando maior variação desse parâmetro com relação à fase anterior, como pode ser observado na Figura 5.3 e Tabela 5.2.

Na quarta fase do experimento, quando o reator foi operado com 634 mg/L de fenol, foram obtidos os menores valores da alcalinidade ao longo do experimento, com desvio padrão de 61 e coeficiente de variação de 2,51%. Observando-se os resultados, pode-se admitir que, nessa fase do experimento, o comportamento do parâmetro alcalinidade, com relação à adição de fenol, foi mais estável, mostrando maior adaptação do sistema ao composto adicionado.

No entanto, na quinta fase do experimento, quando foram adicionados 906 mg/L de fenol ao reator, ocorreu um pequeno aumento no consumo da alcalinidade. O desvio padrão e coeficiente de variação aumentaram para 128 e 5,09%, respectivamente.

Na sexta fase do experimento, quando o reator foi operado com 1203 mg/L de fenol, o consumo da alcalinidade diminuiu apresentando os menores valores de desvio padrão e coeficiente de variação e todo o experimento, iguais a 36 e 1,42%, respectivamente.



**FIGURA 5.3** – Comportamento das concentrações de alcalinidade a bicarbonato efluente nas diferentes concentrações de fenol aplicadas no experimento. Fase I : 50,2 mg/L (a); Fase II : 102 mg/L (b); Fase III : 309 mg/L (c); Fase IV : 634 mg/L (d); Fase V : 906 mg/L (e); Fase VI : 1203 mg/L (f).

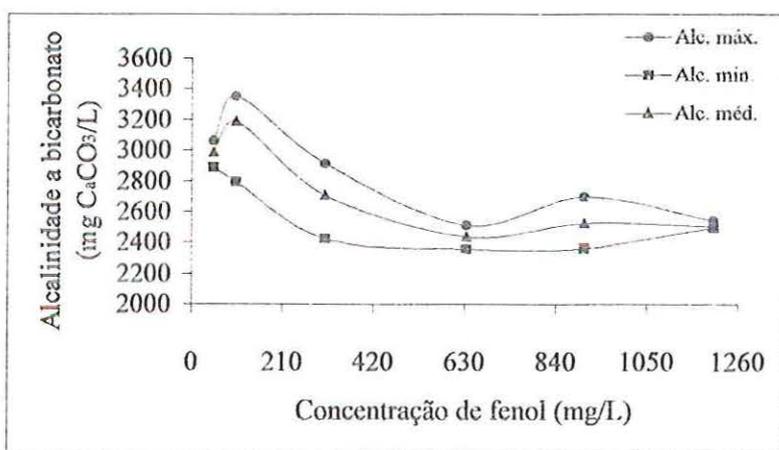
Pode-se concluir que o comportamento do parâmetro alcalinidade, com relação à adição de fenol ao RAHLF, foi influenciado nas primeiras três fases, não chegando a prejudicar o funcionamento do reator.

Nas três últimas fases, esse parâmetro atingiu estabilidade com relação à adição de fenol, mostrando que, apesar da instabilidade inicial, o reator conseguiu estabilizar o parâmetro alcalinidade com relação à adição de fenol, não afetando o funcionamento do mesmo.

A Figura 5.4 apresenta as variações da alcalinidade a bicarbonato máxima, mínima e média, com relação às concentrações de fenol estudadas no experimento.

Para verificar a estabilidade do processo, foi calculada a relação entre a alcalinidade a ácidos voláteis e alcalinidade a bicarbonato (AI/AP) segundo RIPLEY *et al.*, (1986).

Na Tabela 5.3 estão apresentadas as variações dessa relação para cada uma das concentrações de fenol aplicadas ao reator. Pode-se observar que essa relação manteve-se entre 0,12 e 0,37 para todo o experimento, indicando estabilidade para cada uma das fases estudadas. Nas quarta e sexta fases, a relação foi menor, verificando a estabilidade demonstrada pelo reator nesses períodos.



**FIGURA 5.4 – Variações da alcalinidade a bicarbonato máxima, mínima e média efluente com relação às concentrações de fenol estudadas.**

**TABELA 5.3 – Variação da relação AI/AP efluente para as concentrações de fenol estudadas.**

Fase	Concentração de fenol (mg/L)	AI/AP
I	50,2	0,12 – 0,23
II	102	0,19 – 0,29
III	309	0,16 – 0,29
IV	634	0,25 – 0,30
V	906	0,18 – 0,37
VI	1203	0,27 – 0,33

O reator foi operado em câmara com temperatura controlada. No entanto, devido, provavelmente, às oscilações bruscas da temperatura externa, o efluente apresentou temperatura variando entre 29°C e 31°C.

#### 5.4.1.2 – Ácidos voláteis

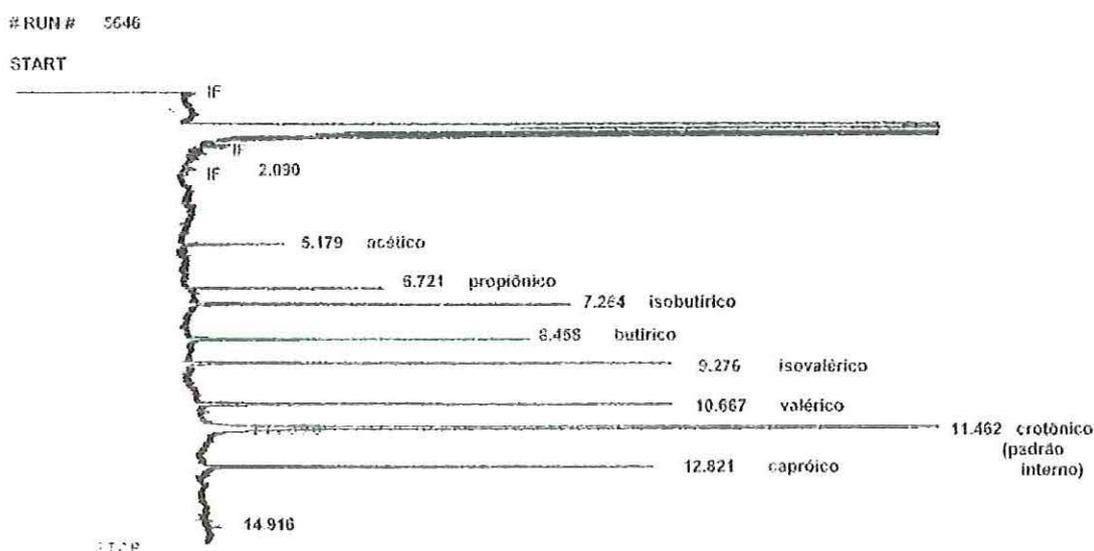
As determinações de ácidos voláteis, por titulação foram realizadas de acordo com a metodologia proposta por DILLALO & ALBERSTON (1961). No entanto, a falta de precisão desse método resultou em dados não confiáveis, impossibilitando a análise desse parâmetro.

O método cromatográfico utilizado para medir a concentração de fenol presente no reator, possibilitaria, também, a detecção da concentração de ácidos voláteis. Contudo, as suas concentrações sempre estiveram abaixo dos limites de detecção do método cromatográfico utilizado.

Como a DQO efluente, após estabilização do reator em cada fase do experimento, esteve na faixa de 20 mg/L e sabendo-se que a concentração de ácidos voláteis é uma parcela desta, pode-se admitir que a remoção de ácidos voláteis no processo de degradação de fenol foi efetiva, para as diferentes concentrações desse composto aplicadas ao reator.

Como os resultados da análise desse parâmetro não estão disponíveis, será apresentado um cromatograma, Figura 5.5, mostrando o pico do tempo de retenção para os ácidos voláteis, comumente encontrados nas diferentes análises de águas

residuais realizadas no laboratório. Comparando-o com o cromatograma da Figura 4.2, observa-se ausência de ácidos voláteis na amostra analisada.



**FIGURA 5.5 – Cromatograma mostrando o tempo de retenção para ácidos voláteis.**

#### 5.4.1.3 – Demanda química de oxigênio – DQO

A análise do comportamento do reator, em relação à DQO, foi feita também com ajuda do método estatístico utilizado para análise dos outros parâmetros.

A Tabela 5.4 apresenta os valores obtidos de análise estatística do desempenho do reator com respeito à DQO efluente.

Na Figura 5.6 estão apresentadas as variações da DQO máxima, mínima e média com relação às concentrações de fenol estudadas no experimento.

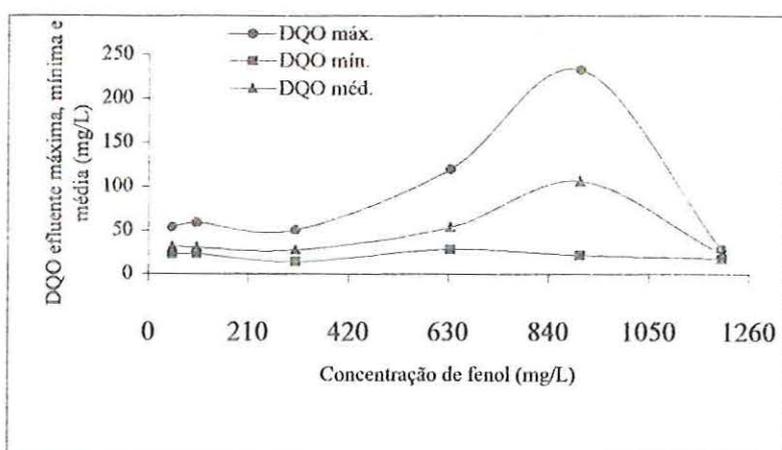
A Figura 5.7 apresenta os gráficos dos valores encontrados para a DQO em cada fase do experimento.

**TABELA 5.4 – Valores obtidos através de análise estatística do desempenho do RAHLF com respeito à DQO (mg/L) efluente.**

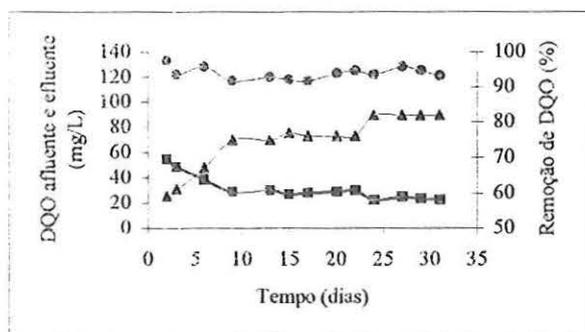
Fase	Concentração de fenol (mg/L)	DQO afluente aportada pelo Fenol (mg/L)	DQO máx.	DQO mín.	DQO méd.	DP	CV (%)
I	50,2	119,05	54	22	31	9,8	31,6
II	102	238	59	23	30	11,4	38
III	309	714	51	14	27	12,9	47,8
IV	634	1429	120	28	54	32,1	59,4
V	906	2143	232	21	106	85,8	80,9
VI	1203	2857	28	18	23	3,6	15,7

DP = desvio padrão

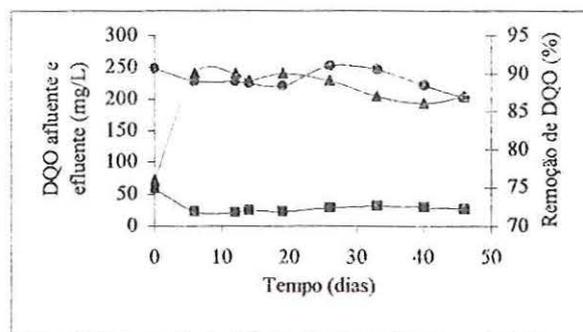
CV = coeficiente de variação



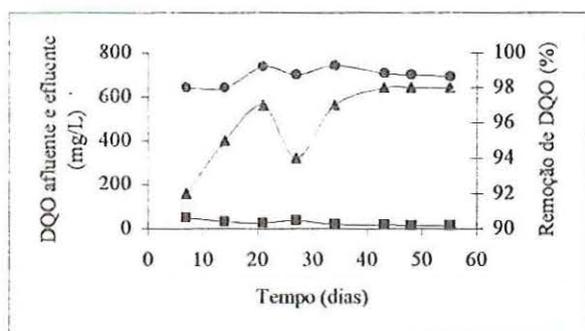
**FIGURA 5.6 - Variações da DQO máxima, mínima e média efluente com relação às concentrações de fenol estudadas.**



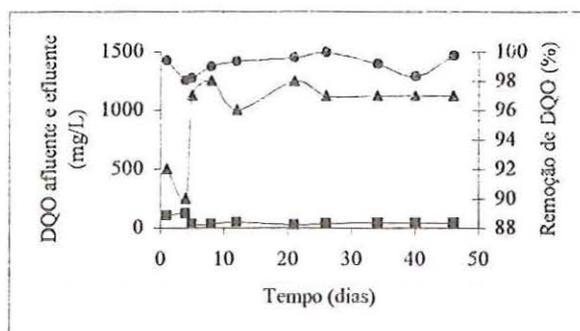
(a)



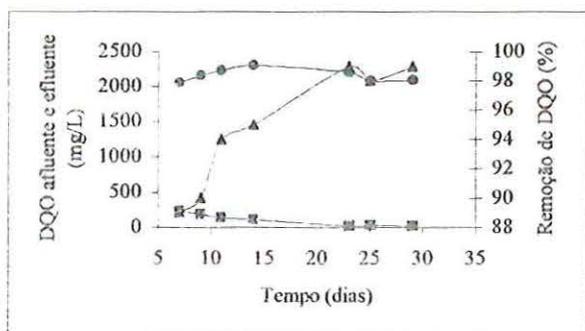
(b)



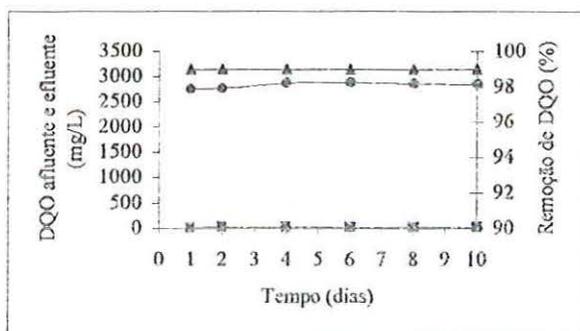
(c)



(d)



(e)



(f)

**FIGURA 5.7 – Comportamento da Demanda Química de Oxigênio - DQO afluente (○), DQO efluente (■) e remoção de DQO (▲) nas diferentes concentrações de fenol aplicadas no experimento. Fase I : 50,2 mg/L (a); Fase II : 102 mg/L (b); Fase III : 309 mg/L (c); Fase IV : 634 mg/L (d); Fase V : 906 mg/L (e); Fase VI : 1203 mg/L (f).**

Como pode ser observado na Tabela 5.4 e nas Figuras 5.6 e 5.7, na primeira fase do experimento, quando foram adicionados 50,2 mg/L de fenol equivalentes à DQO de 119,05 mg/L obteve-se desvio padrão de 9,8 e coeficiente de variação de 31,6%. No início da adição de fenol, foram encontrados os maiores valores da DQO efluente, que estabilizou-se no final da fase, no valor de 23 mg/L. A DQO média, durante a operação dessa fase, foi de 31 mg/L. A eficiência de remoção da DQO, após 31 dias de operação, se estabilizou em 82%.

Pode-se concluir que, nessa fase do experimento, o RAHLF conseguiu degradar o composto em estudo, atingindo porcentagem de remoção relativamente alta em poucos dias. O bom desempenho do sistema nessa fase, deveu-se, provavelmente, à adequada adaptação que a biomassa imobilizada apresentava no momento de se adicionar fenol, inicialmente, em concentração baixa, visando não afetar a biomassa presente no reator.

Na segunda fase do experimento, com 100 mg/L de fenol correspondente à DQO de 238 mg/L, o desvio padrão e coeficiente de variação foram 11,4 e 38%, respectivamente. Esses valores um pouco aumentados com relação à fase anterior, mostram maior variação entre os resultados obtidos.

No entanto, nessa fase do experimento, após 108 dias de operação, a DQO efluente estabilizou-se em 30 mg/L, apresentando o mesmo valor para a DQO efluente média, durante o tempo de operação nessa condição. No final dessa fase, a remoção da DQO havia-se estabilizado em 89%, indicando que, apesar do aumento da concentração do composto tóxico, o desempenho do RAHLF não foi afetado, atingindo porcentagem maior de remoção de DQO, devido, provavelmente, ao início da adaptação da biomassa presente no reator ao fenol.

Na terceira fase do experimento, quando foram adicionados 300 mg/L de fenol, equivalentes à DQO de 714 mg/L, os resultados apresentaram desvio padrão e coeficiente de variação de 12,9 e 47,8%, respectivamente. Esses valores são levemente superiores aos obtidos na fase anterior, como aconteceu entre as duas primeiras fases, mostrando que a variação entre os dados aumentou. Contudo, após uma semana de alimentação do reator com 300 mg/L de fenol, a DQO efluente caiu para 51 mg/L, estabilizando-se no final da fase em 15 mg/L, apresentando valor médio durante toda a operação de 27 mg/L e porcentagem de remoção de DQO de

98% no final da fase. Esses resultados indicam que apesar do aumento da concentração de fenol, o RAHLF degradou esse composto rapidamente, aumentando sua capacidade de remoção de DQO e de degradação da carga orgânica aplicada, não resultando em inibição do sistema pelo aumento da concentração do composto tóxico adicionado.

Com 600 mg/L de fenol equivalente à DQO de 1429 mg/L, condição do reator na quarta fase do experimento, os resultados mostraram desvio padrão de 32,1 e coeficiente de variação de 59,4%, apresentando aumento considerável com relação à fase anterior, mostrando forte variação entre os resultados obtidos. A DQO efluente estabilizou-se em 43 mg/L no final do experimento e, durante a operação do reator nessa condição, a DQO média foi de 54 mg/L, com remoção estável de DQO de 97% no final dessa fase.

Os incrementos nos valores do desvio padrão e do coeficiente de variação provavelmente ocorreram porque, nos primeiros quatro dias de operação nessa condição, a DQO efluente esteve na faixa de 107 mg/L a 120 mg/L, como pode ser observado na Figura 5.7, e, após o quinto dia, esta caiu para 33 mg/L, estabilizando-se, finalmente, em valores próximos a 43 mg/L. Esse resultado é importante, pois indica que o desempenho do RAHLF passou por um leve desequilíbrio quando adicionados 600 mg/L de fenol, mostrado pelos altos valores da DQO efluente. Porém, o sistema conseguiu se recuperar rapidamente e manter a condição de degradação que estava apresentando.

Na quinta fase do experimento, quando o reator foi operado com 900 mg/L de fenol, que correspondem à DQO de 2143 mg/L, o desvio padrão e coeficiente de variação foram de 85,8 e 80,9%, respectivamente, sendo a maior variação dos resultados obtidos durante o experimento. Isto pode ser explicado, porque, após uma semana do início da operação do reator nessa fase, a DQO efluente foi de 232 mg/L, diminuindo gradativamente, até chegar a 17 mg/L no 23<sup>o</sup> dia de operação, estabilizando-se no final da fase em valores de DQO efluente próximos a 23 mg/L. A DQO efluente média durante a operação do reator, nessa fase, foi de 106 mg/L e a eficiência de remoção de DQO foi de 99% no final da fase.

Nessa fase, a resposta do RAHLF foi menos rápida para produzir valor de DQO efluente estável. No entanto, a condição com valores baixos de DQO foi

atingida, mostrando resposta de recuperação do sistema à condição adversa de aumento da concentração do fenol e de adaptação da biomassa ao composto.

Na sexta fase de operação do RAHLF, com 1200 mg/L de fenol, equivalentes à DQO de 2857 mg/L, o desvio padrão foi de 3,6 e o coeficiente de variação de 15,7%, sendo as menores variações encontradas durante todo o experimento. A DQO efluente se estabilizou em valores próximos a 26 mg/L; a DQO efluente média durante esse experimento foi de 23 mg/L e a remoção de DQO durante essa fase permaneceu estável em 99%.

Esses resultados indicam que, apesar do RAHLF ter apresentado dificuldades para degradar o fenol nas concentrações de 600 mg/L e 900 mg/L, no início de cada fase, a adaptação da biomassa a esse composto foi alcançada, já que o reator apresentou melhor desempenho comparado com as outras fases quando foram aplicadas maiores concentrações de fenol.

Portanto, com relação ao parâmetro DQO, pode-se concluir que esse não foi afetado pelo aumento da concentração de fenol no reator. Provavelmente na quarta e quinta fase, o reator passou por uma leve instabilidade. Porém, essa condição não foi significativa nem persistente, pois o reator conseguiu recuperar sua capacidade de degradação em tempo relativamente curto.

#### **5.4.2 – Análise da composição de biogás presente no reator durante a adição de fenol**

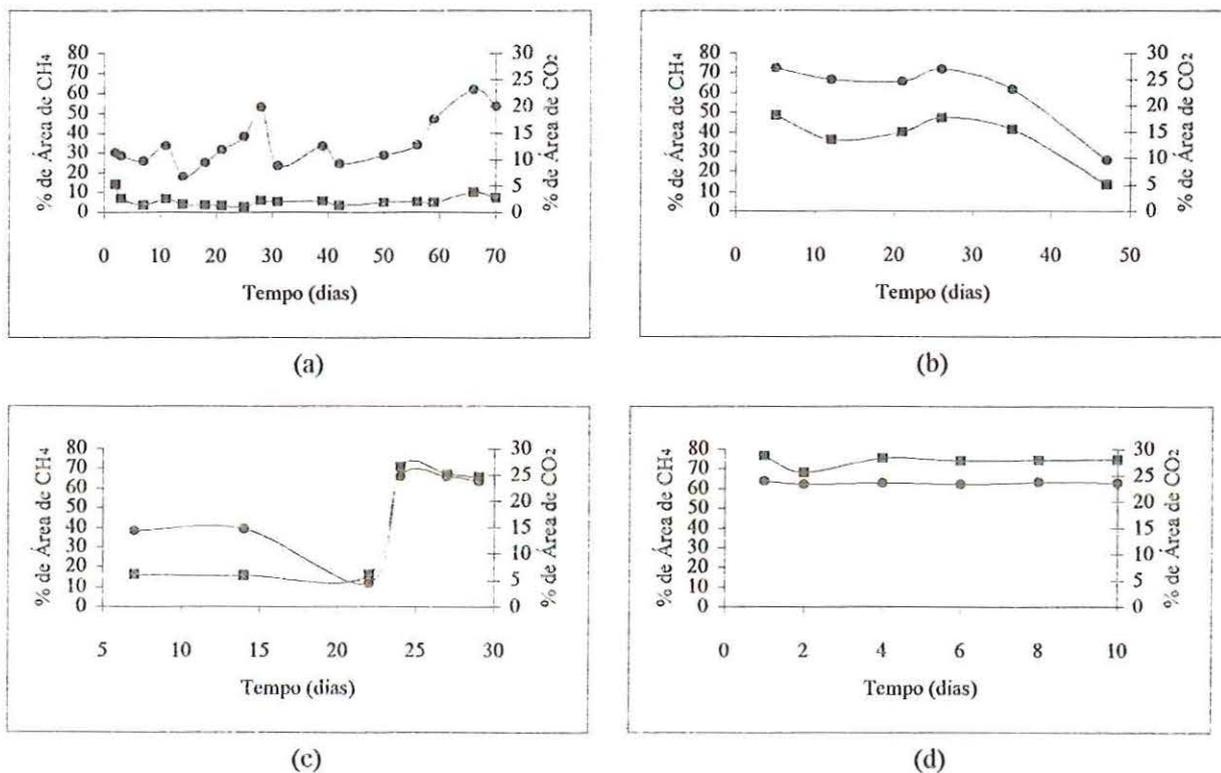
Foram feitas análises do biogás para verificar a presença de metano no reator. Como a adição de fenol foi progressiva, iniciando-se com baixas concentrações, as porcentagens de metano medidas inicialmente foram muito baixas.

Isso pode ser explicado porque as concentrações de metano e do dióxido de carbono produzidos em um digestor anaeróbio dependem da concentração e da composição do material orgânico digerido, sendo a produção de metano diretamente proporcional à concentração de DQO digerida, e a produção de CO<sub>2</sub> dependente da composição do material orgânico, além da concentração da DQO digerida.

Sabe-se que a composição global do biogás, produzido durante a digestão anaeróbia, varia de acordo com as condições ambientais presentes no reator, mudando durante o período inicial de partida do sistema, como também quando o

processo de digestão é inibido. Reatores em operação estável apresentam composição de biogás uniforme. No entanto, a proporção de gás carbônico em relação ao metano pode variar, dependendo das características do composto orgânico a ser degradado. As proporções típicas de metano e dióxido de carbono no biogás gerado no processo de digestão de esgotos domésticos são:  $\text{CH}_4$ : 70% a 80%;  $\text{CO}_2$ : 30% a 20%.

Na Figura 5.8 estão apresentados os gráficos relacionando a porcentagem de metano e do dióxido de carbono antes da adição de fenol e nas fases que possibilitaram as medidas.



**FIGURA 5.8 – Composição do biogás no reator - % de área de metano (●), % de área do dióxido de carbono (■). Fase de adaptação do inóculo (a); Fase IV : 634 mg/L (b); Fase V : 906 mg/L (c); Fase VI : 1203 mg/L (d).**

Na Figura 5.8a, observa-se que, antes do início da adição de fenol, o reator apresentava aumento com relação à porcentagem de área de metano, estabilizando-se na faixa de 50% a 62%. Esse resultado, juntamente com os outros parâmetros físico-químicos, indicaram a ocorrência de condição ótima para iniciar a adição de fenol.

No entanto, nas fases I, II e III do experimento com adição de fenol, não foi possível obter medidas significativas da composição do biogás, provavelmente devido à mudança da carga orgânica e à baixa concentração com que foi iniciada a adição do fenol.

Outros fatores podem ter tido influência nessa medida. É provável que tenham ocorrido perdas, mesmo tendo o reator sido operado de maneira cuidadosa. Ao contrário do CO<sub>2</sub>, cuja concentração na fase gasosa está em equilíbrio com a fase líquida, o gás metano separa-se mais facilmente da fase líquida.

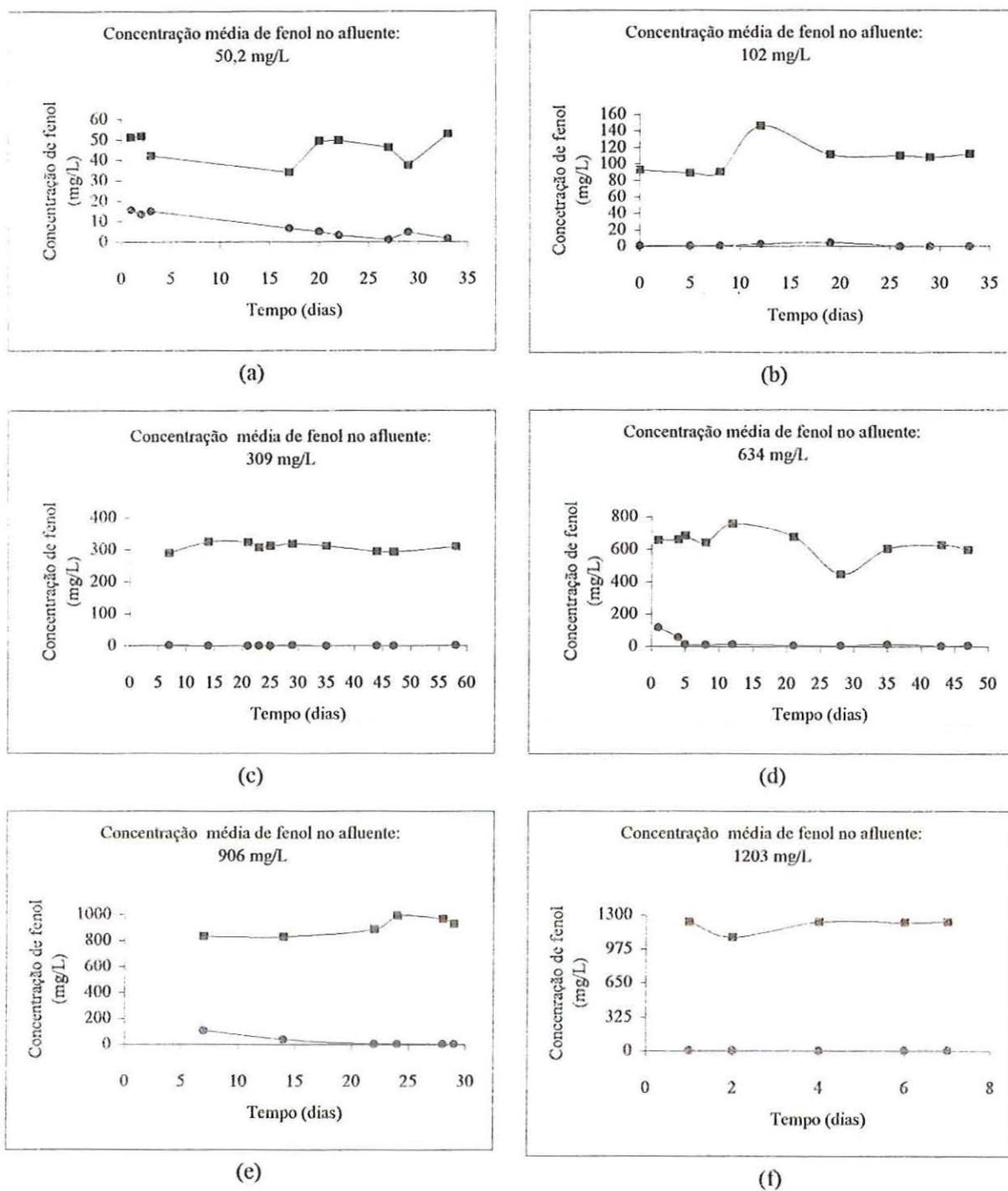
Contudo, nas fases IV, V e VI a porcentagem de metano se estabilizou em valores acima de 60%, indicando que, possivelmente, a produção de metano no reator também era alta. Os valores baixos observados nos gráficos podem ser devidos a erro de medida. Esses resultados são compatíveis com os resultados físico-químicos, mostrando que o processo de digestão anaeróbia de degradação de fenol, no RAHLF, não foi inibido pelo aumento da concentração do composto tóxico.

#### **5.4.3 – Comportamento do RAHLF com relação às diferentes concentrações de fenol adicionadas**

A avaliação do desempenho do RAHLF com respeito à degradação de fenol, foi avaliada observando-se a diminuição da concentração afluente ao longo do tempo.

Retiradas as fontes de carbono (glicose, ácido acético e ácido fórmico) inicialmente colocadas no substrato sintético, adicionou-se fenol e a operação do reator foi dividida em seis fases, de acordo com as concentrações de fenol aplicadas, com TDH de 12 horas.

Na Figura 5.9 estão apresentados os gráficos da variação da concentração efluente no RAHLF para cada uma das concentrações de fenol estudadas.



**FIGURA 5.9 – Concentrações afluentes (■) e efluentes (●) de fenol durante a operação do RAHLF, quando submetido a diferentes concentrações desse composto. Fase I: 50,2 mg/L (a); Fase II: 102 mg/L (b); Fase III: 309 mg/L (c); Fase IV: 634 mg/L (d); Fase V: 906 mg/L (e); Fase VI: 1203 mg/L (f).**

Durante a operação do reator em todas as fases, observou-se que o período de adaptação foi muito rápido. Na primeira fase de operação, quando o reator foi submetido a concentração de 50,2 mg/L, a eficiência de remoção de fenol foi de 69%, apresentando concentração efluente de 15,7 mg/L. Após 33 dias de operação em esta condição, a eficiência de remoção de fenol se estabilizou em 97% com uma concentração efluente de 1,65 mg/L.

Quando o reator foi operado com 102 mg/L, permaneceu nesta condição por 115 dias. Depois deste período, o monitoramento do reator mostrou eficiência de remoção de 99%, com concentração efluente de 0,59 mg/L. Contudo, no 134º dia, a concentração efluente aumentou para 4,54 mg/L, indicando leve variação do processo. Porém do 141º ao 148º dia, quando terminou essa fase de operação, a concentração de fenol no efluente não pôde ser detectada pelo método cromatográfico utilizado.

Na fase em que o reator foi submetido à concentração de 309 mg/L de fenol, após o 7º de operação, obteve-se eficiência de remoção de 99%, com concentração efluente de 1,41 mg/L. Observou-se leve variação no sistema, já que as análises mostravam, alternadamente, presença de fenol em concentrações baixas no efluente e com valores abaixo do nível de detecção do cromatógrafo. No entanto, a concentração efluente sempre esteve abaixo de 1,0 mg/L depois da primeira semana de operação nessa condição.

Na quarta fase do experimento, o reator foi submetido à concentração afluenta de 634 mg/L de fenol. No primeiro dia nessa condição de operação, a eficiência de remoção foi de 82%. No 47º dia de operação a concentração média efluente foi de  $5,6 \pm 2,1$  mg/L.

Esses resultados indicam que a biomassa presente no reator estava realmente adaptada ao fenol. Os resultados encontrados nesse experimento são menores que os encontrados por SHELDON *et al.*, (1995). Esses autores utilizaram um reator UASB tratando um substrato sintético contendo fenol como única fonte de carbono, na concentração afluenta de 504 mg/L, TDH de 3 dias e obtiveram concentrações de fenol no efluente de 25 mg/L, aproximadamente.

Quando o reator foi submetido à concentração de 906 mg/L de fenol, após uma semana de operação, a eficiência de remoção era de 87% e a concentração no

efluente de 110 mg/L. O valor da concentração no efluente foi diminuindo aos poucos e depois de 22 dias de operação esse valor era de 3,32 mg/L, com eficiência de remoção de 99%, estabilizando-se nessa porcentagem com concentração efluente de 2,92 mg/L.

Na última fase do experimento, quando o reator foi operado com concentração afluente de fenol de 1203 mg/L, após um dia de operação, a concentração efluente era de 3,34 mg/L, com eficiência de remoção de 99%, permanecendo estável durante a operação nessa condição.

No presente trabalho, os valores encontrados nesta condição de operação são menores que os determinados por FANG *et al.*, (1996) que, utilizando um reator UASB para tratamento de água residuária sintética contendo fenol como única fonte de carbono, com TDH de 12 horas e concentração máxima de fenol de 1260 mg/L, obtiveram eficiência de remoção de 97% com concentração efluente de 38 mg/L, aproximadamente.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que o RAHLF pode ser utilizado no tratamento de águas residuárias contendo fenol e de água contaminada com fenol, para concentrações tão altas como as utilizadas neste estudo. Com respeito ao TDH, este foi adequado para se obterem altas eficiências de remoção, como já havia sido descrito por FANG *et al.*, (1996).

As altas eficiências de remoção e a adaptação do reator em tempos relativamente curtos, podem estar relacionadas à utilização de biomassa imobilizada. De acordo com HANAKI *et al.*, (1994), experimentos em reatores em batelada indicaram que células imobilizadas toleraram maiores concentrações de fenol que células não imobilizadas. Os autores não observaram inibição da atividade bioquímica quando a biomassa imobilizada foi submetida a concentrações de 1500 mg/L de fenol.

#### **5.4.4 – Relações entre eficiências de remoção de DQO e taxas de carregamento orgânico**

As correlações entre as eficiências de remoção de DQO e as taxas de carregamento orgânico foram analisadas durante todo o tempo de experimento para

um TDH de 12 horas. Na Tabela 5.5 estão apresentados os dados correspondentes a essa correlação.

**TABELA 5.5 – Eficiências de remoção de DQO e taxas de carregamento orgânico para as diferentes fases de operação do reator.**

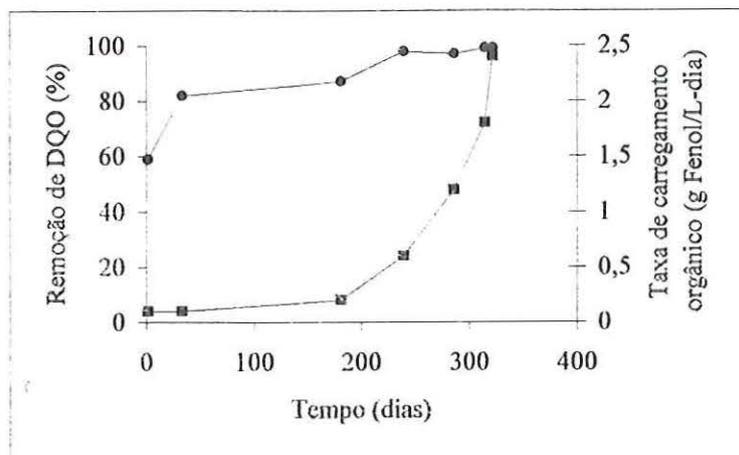
Fase	Duração da fase (d)	Tempo acum. (d)	Fenol (mg/L)	Remoção DQO (%)	TCO (gFenol/L-dia)
		1	50,2	59	0,1
I	33	33	50,2	82	0,1
II*	148	181	103	87	0,2
III	58	239	309	98	0,6
IV	47	286	634	97	1,2
V	29	315	906	99	1,8
VI	7	322	1203	99	2,4

\* Nesta fase o reator foi alimentado com 100 mg/L de fenol por 115 dias sem monitoramento, após este período, as análises foram realizadas por 33 dias nessa condição de operação.

A Figura 5.10 apresenta a eficiência de remoção da DQO em função da taxa de carregamento orgânico.

Com base nos dados da Tabela 5.5, na Figura 5.10, apresenta-se a eficiência de remoção da DQO como função da taxa de carregamento orgânico ao longo da duração do experimento, mostrando que o aumento da remoção de DQO esteve relacionado com o aumento da taxa de carregamento orgânico e que o tempo de detenção hidráulica utilizado, nesse experimento, foi adequado para degradar fenol.

A análise global do experimento indica que altas eficiências de remoção de DQO foram obtidas paralelamente com altas eficiências de remoção de fenol. Portanto, pode-se dizer, que o fenol, além de ter sido convertido a produtos intermediários, foi realmente removido do meio líquido.



**FIGURA 5.10 – Variação da eficiência de remoção da DQO (●) em função da taxa de carregamento orgânico (■) ao longo do tempo.**

#### 5.4.5 – Exames microbiológicos do lodo

Nos exames microbiológicos são apresentadas as morfologias e a caracterização da biomassa imobilizada presente no RAHLF utilizado no tratamento de água residuária contendo fenol.

Foram realizadas observações das biopartículas da espuma de poliuretano ao final de cada fase de operação, com diferentes concentrações de fenol. Em todas as condições de operação, observou-se a predominância de bacilos irregulares, vibrios, bacilos retos e filamentos segmentados. Além disso, arqueas metanogênicas como sarcinas e bacilos fluorescentes foram observadas ao longo do reator e durante todo o tempo do experimento. A Figura 5.11 apresenta os diferentes tipos morfológicos encontrados nas biopartículas presentes no RAHLF.

Os bacilos irregulares são provavelmente microrganismos oxidadores de fenol e comportamento pleomórfico foi observado quando a concentração de fenol foi progressivamente aumentada, como pode ser observado na Figura 5.11a. Os vibrios não fluorescentes estão relacionados a bactérias fermentativas que utilizam ácidos orgânicos. Essas bactérias foram principalmente observadas em amostras de biopartículas tomadas do reator quando estava sendo operado com concentrações maiores que 600 mg/L. A Figura 5.11b apresenta esse tipo de microrganismo.

Os filamentos segmentados são similares a *Thiotrix* que cresce principalmente na presença de compostos de enxofre (MADIGAN *et al.*, 1999). Contudo, essa morfologia foi observada esporadicamente. Provavelmente, essas células estavam

presentes no lodo granulado, proveniente de reator UASB que tratava águas residuárias ricas em sulfato e sulfeto e que foi utilizado como inóculo no RAHLF.

Segundo FANG *et al.*, (1997), águas residuárias contendo poluentes aromáticos, como o fenol, apresentam, também, alto conteúdo de sulfato, já que os doadores de elétrons, na forma de DQO na água residuária, podem ser convertidos a metano ou várias formas de sulfeto. Esta pode ter sido a outra causa da presença de filamentos semelhantes a *Thiothrix*, observada no presente trabalho. A Figura 5.11c mostra a morfologia desse tipo de microrganismo.

Bacilos retos, bacilos fluorescentes com forma oval e cocos foram os organismos metanogênicos predominantes encontrados nas biopartículas. Esses microrganismos pertencem, provavelmente, à família *Methanobacteriaceae* correspondente ao gênero *Methanobacterium* e *Methanobrevibacter*. Cocos fluorescentes, provavelmente semelhantes a *Methanococcus*, foram também observados entre as arqueas metanogênicas, como mostrado na Figura 5.11d. De acordo com BOONE & MAH (1989) e WHITMAN (1989), esses gêneros são estritamente anaeróbios e utilizam hidrogênio como o principal doador de elétrons para a metanogênese.

Vibrios não fluorescentes, bacilos retos e bacilos com pontas afiladas, e organismos semelhantes a *Methanosaeta*, foram os organismos predominantes em todas as condições avaliadas, como mostrado nas figuras 5.11e e 5.11f. Esses organismos usam acetato, exclusivamente, como fonte de energia, com produção de metano e dióxido de carbono (ZEHNDER, 1989). Além dessas morfologias, foi verificada a presença de algumas sarcinas metanogênicas. Portanto, pode-se concluir que a operação e as condições ambientais no reator favoreceram as arqueas acetotrotólicas *Methanosaeta*, com relação ao gênero *Methanosarcina*. FANG *et al.*, (1996), verificaram a presença de arqueas semelhantes a *Methanosaeta*, *Methanospirillum* e *Methanobrevibacter* em reator UASB tratando fenol com uma concentração máxima de 1260 mg/L.

Pode-se concluir que as biopartículas analisadas durante todo o experimento, para as diferentes concentrações afluentes de fenol mostraram, principalmente, a presença de coco-bacilos, responsáveis pela oxidação de fenol, além de *Methanosaeta* acetoclástica, *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter* e

*Methanococcus* hidrogenotróficos. DWYER *et al.*, (1986), observaram essa relação sintrófica verificando o predomínio de três tipos morfológicos: *Methanosaeta*, organismos hidrogenotróficos fluorescentes e uma célula de forma oval oxidadora de fenol em um reator com células imobilizadas tratando esse composto com concentrações entre 10 mg/L e 2000 mg/L.

## 5.5 – Potencial de adsorção de fenol

### 5.5.1 – No meio suporte

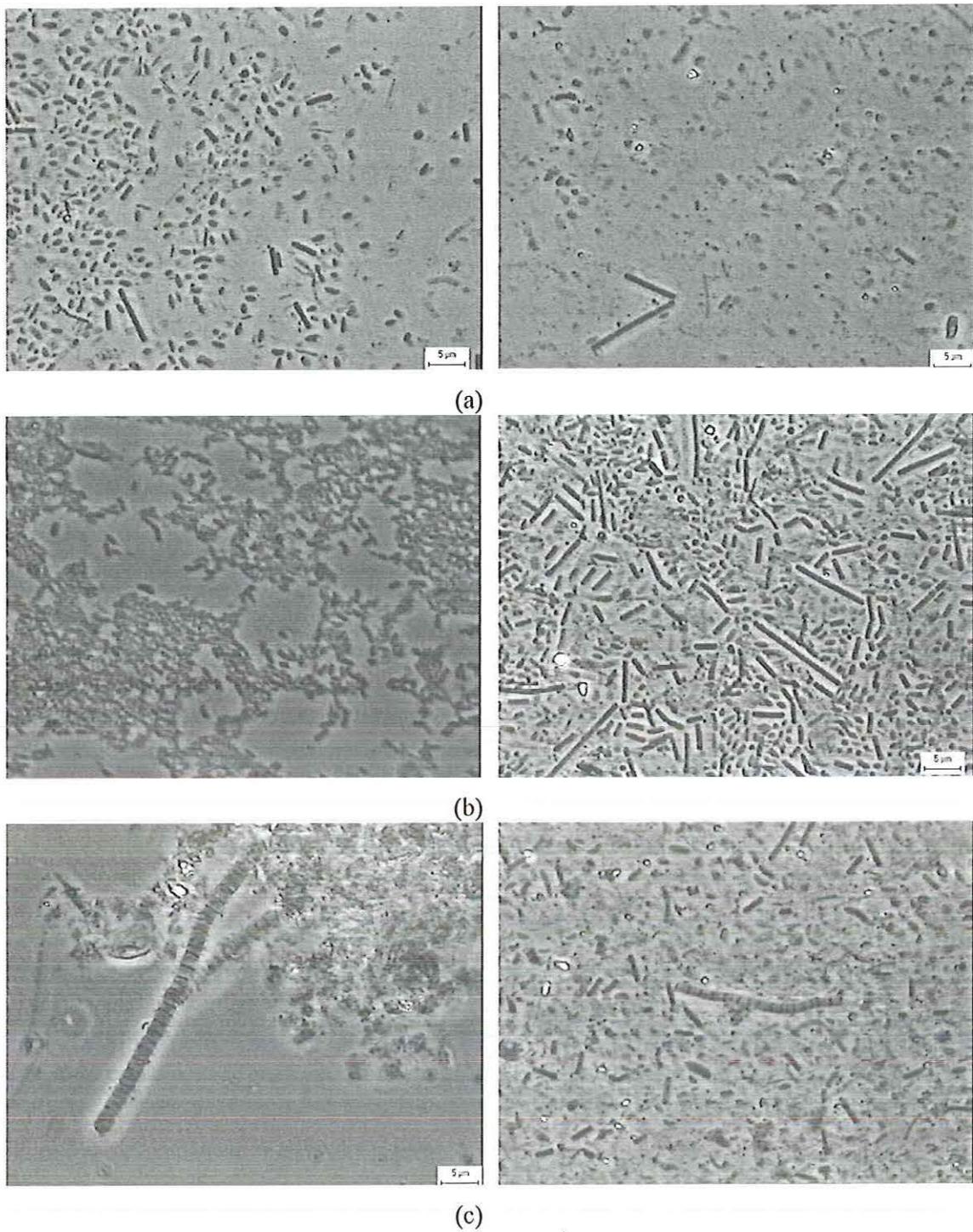
A Tabela 5.6 apresenta os resultados do teste de avaliação da adsorção de fenol na espuma de poliuretano. Esse teste foi realizado para a concentração de fenol de 600 mg/L, 800 mL de meio de cultura e segundo metodologia descrita no item 4.2.8.

**TABELA 5.6 – Resultados do teste de adsorção de fenol no meio suporte.**

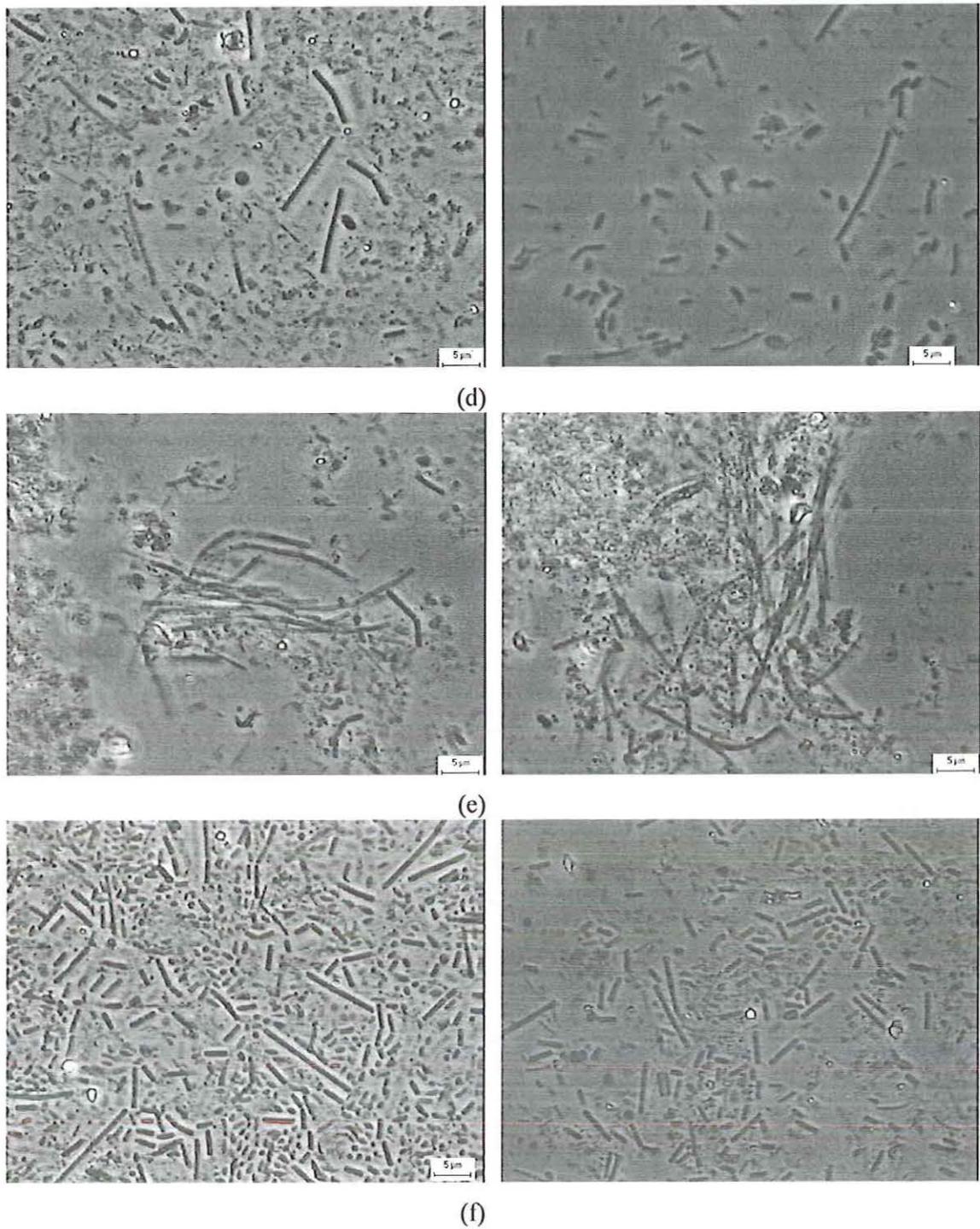
Tempo (h)	Concentração de fenol (mg/L)	Massa de fenol (mg)	Massa de fenol retida com relação ao tempo zero (mg)	Massa de fenol retida (%)
0	586,4	469,12 (80,1%)		
2	532,45	425,96	43,16	7,4
4	544,98	435,98	33,14	5,7
6	505,14	404,11	65,01	11,1
8	503,49	402,79	66,33	11,3

Segundo os resultados apresentados na Tabela 5.6, a massa de fenol retida nas primeiras duas horas do experimento foi de 43,16 mg equivalente a 7,4% de massa de fenol. Depois de quatro horas de experimento, a massa retida caiu para 33,14 mg, equivalentes a 5,7% de massa retida e após 6 horas de experimento aumentou para 65,01 mg (11,1% de massa retida), permanecendo nessa faixa até o final do experimento.

Observa-se, então, que após seis horas de experimento, a massa retida de fenol permaneceu constante, indicando possível saturação da espuma.



**FIGURA 5.11 – Fotomicrografias em contraste de fase de bactérias e arqueas metanogênicas immobilizadas em espuma de poliuretano: (a) coco-bacilos, (b) vibrio, (c) Bactéria semelhante a *Thiotrix*.**



**FIGURA 5.11** - Fotomicrografias em contraste de fase de bactérias e arqueas metanogênicas immobilizadas em espuma de poliuretano: (d) Cocos metanogênicos, (e) Arquea metanogênica semelhante a *Methanosaeta*, (f) vibrios, bacilos retos, bacilos com pontas afiladas.

Os seguintes dados foram utilizados para calcular a massa de fenol adsorvida:

Massa adsorvida de fenol no experimento = 66,33 mg

Volume do reator = 15 ml

Volume de espuma utilizado = 15 mL x 0,60 (volume reacional) = 9 ml

Densidade da espuma = 0,023 g/ml

Massa da espuma = 0,023 x 9 = 0,207 g

Massa de fenol adsorvida = 66,33 / 9 = 7,4 mg de fenol / ml de espuma

320,4 mg de fenol / g espuma

Como o RAHLF foi inoculado com 27,8 g de espuma, pode-se utilizar esse resultado para inferir sobre sua capacidade de adsorção de fenol, assim:

320,4 mg de fenol/g espuma x 27,8 g de espuma = 8907 mg de fenol

Na fase em que foi adicionada a concentração de 50,2 mg/L de fenol ao RAHLF, foram introduzidos 2576 mg de fenol ao reator, não atingindo sua capacidade de adsorção de fenol. Porém, no período em que a concentração de fenol aumentou para 102 mg/L, a quantidade de fenol colocada no reator foi de 23474 mg, superando sua capacidade de adsorção e indicando que, para as outras fases do experimento, o meio suporte estaria completamente saturado.

#### 5.5.2 -- No lodo imobilizado

De acordo com citação no item 4.2.10.2, efetuou-se teste de adsorção de fenol no lodo imobilizado e inativado, como explicado na metodologia, visando avaliar a parcela de fenol adsorvida na biomassa imobilizada.

O teste foi realizado para concentração de 300 mg/L de fenol, tentando-se aproveitar o material retirado do RAHLF, com objetivo de se minimizar possíveis problemas devidos à retirada das biopartículas do reator ao longo do experimento.

Para análise dos resultados obtidos nesse teste, foi calculado o valor médio das análises cromatográficas realizadas, considerando a quantidade de cubos de espuma de poliuretano utilizados, assim:

Concentração média de fenol = 0,00028 mg de fenol / espuma de poliuretano

Para determinar a quantidade de fenol adsorvida no RAHLF foi utilizado esse resultado com a seguinte análise:

Volume da espuma de poliuretano =  $0,125 \text{ cm}^3 = 0,125 \text{ ml}$

Densidade da espuma de poliuretano =  $0,023 \text{ g / ml}$

Massa de espuma colocada no reator =  $27,8 \text{ g}$

Volume de espuma colocada no reator =  $27,8 \text{ g} / 0,023 \text{ g / ml} = 1209 \text{ ml}$

Número de espumas colocadas no RAHLF =  $1209 / 0,125 = 9672$

Massa de fenol adsorvida no lodo =  $0,00028 \times 9672 = 2,71 \text{ mg}$

De acordo com esse resultado, pode-se considerar, que a quantidade de fenol adsorvida no lodo foi desprezível, quando comparada à removida e à capacidade de adsorção de fenol pela espuma de poliuretano.

#### **5.6 – Inativação da biomassa imobilizada**

Biopartículas de espuma de poliuretano foram retiradas do RAHLF para serem inativadas, como o objetivo de se realizar o ensaio cinético na ausência de reações bioquímicas.

Inicialmente, biopartículas de espuma de poliuretano foram inativadas com etanol 50% (v / v), de acordo com metodologia descrita por VELA *et al.*, (1999) e como descrito no item 4.2.9. Observações ao microscópio, após a inativação, mostraram que o lodo apresentava-se empobrecido quanto à diversidade e quantidade de microrganismos com relação à observação realizada antes da inativação.

No entanto, técnicas de atividade metanogênica específica não foram realizadas para confirmar as observações ao microscópio, mas pelo alto tempo de exposição (48 horas) ao etanol, presume-se que foi alcançada inativação do lodo imobilizado, durante o tempo que foi realizado o ensaio cinético, como foi verificado por VELA *et al.*, (1999).

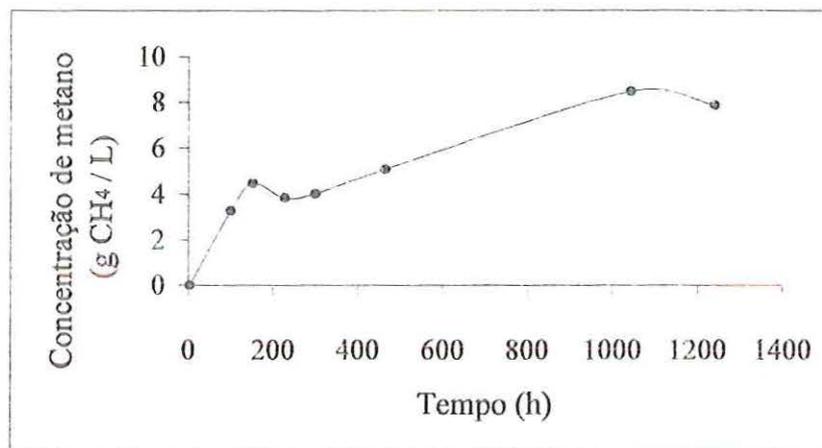
Na seguinte fase do experimento, as biopartículas de espuma de poliuretano foram inativadas com luz ultravioleta (UV), como descrito no item 4.2.9.

Técnicas de atividade metanogênica específica foram realizadas após finalizado o tempo de exposição das biopartículas de espuma de poliuretano à inativação, visando acompanhar a presença ou não de biogás nos reatores alimentados com fenol e acetato e no reator controle. Os resultados do ensaio de

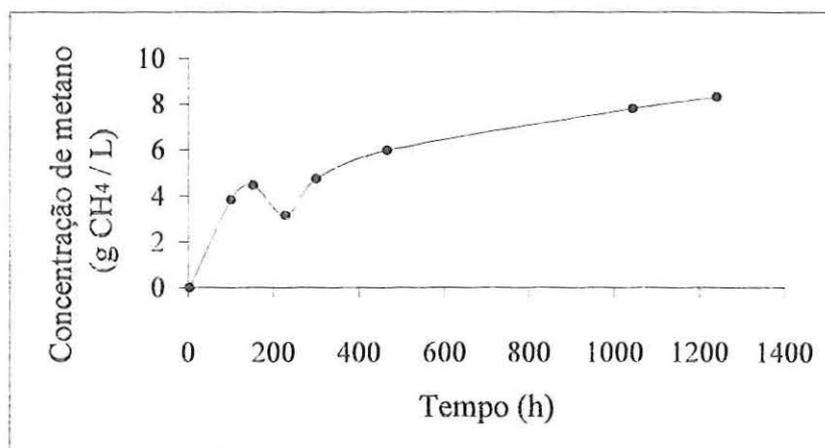
atividade metanogênica estão expressos em termos de concentração de metano, como pode ser observado nas Tabelas 5.7 e 5.8 e nas Figuras 5.12 a 5.14.

**TABELA 5.7 – Resultados do ensaio de atividade metanogênica nos reatores alimentados com fenol, acetato e inativados com UV.**

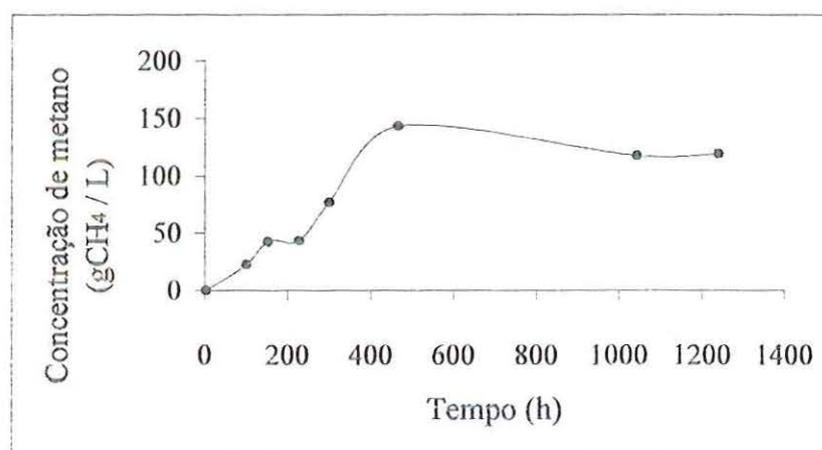
Tempo(h)	Fenol (g CH <sub>4</sub> / L)		Acetato (g CH <sub>4</sub> / L)
	40 minutos	90 minutos	90 minutos
4	0	0	0
100	3,245	3,815	22,28
152	4,469	4,479	42,61
228	3,809	3,148	43,46
300	4,024	4,759	76,74
465	5,079	5,977	143,1
1043	8,494	7,805	117,3
1239	7,879	8,319	119,0



**FIGURA 5.12 – Concentração de metano no reator alimentado com fenol e exposto a 40 minutos de inativação com UV.**



**FIGURA 5.13 – Concentração de metano no reator alimentado com fenol e exposto a 90 minutos de inativação com UV.**

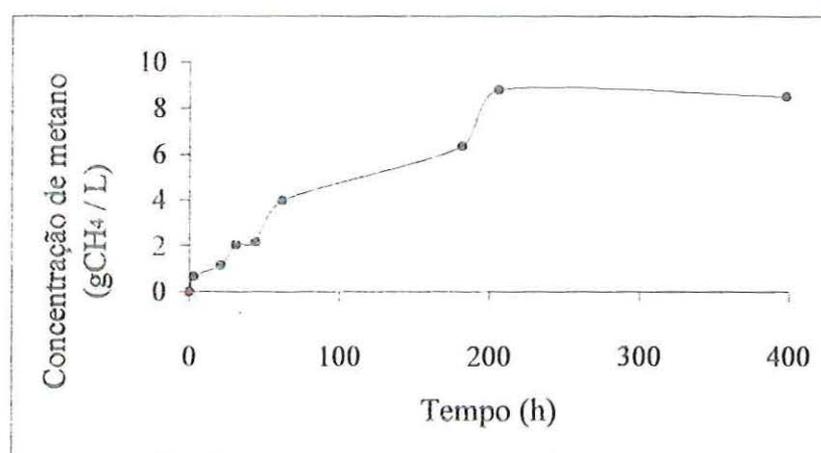


**FIGURA 5.14 - Concentração de metano no reator alimentado com acetato e exposto a 90 minutos de inativação com UV.**

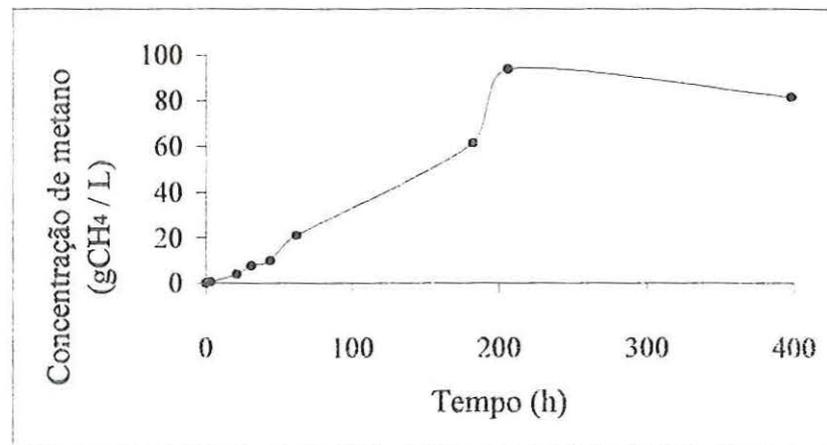
Na Tabela 5.8 e nas Figuras 5.15 e 5.16 estão apresentados os resultados do ensaio de atividade metanogênica realizado para os reatores alimentados com fenol e acetato, sem exposição à luz UV, constituindo-se nos reatores controle do ensaio.

**TABELA 5.8 – Resultados do ensaio de atividade metanogênica nos reatores controle alimentados com fenol e acetato.**

Tempo (h)	Controle (gCH <sub>4</sub> / L)	
	Fenol	Acetato
0	0	0
3	0,6751	0,6751
21	1,141	3,982
31	2,039	7,578
44	2,170	9,940
62	3,972	21,13
182	6,359	61,41
206	8,811	93,84
398	8,513	81,82



**FIGURA 5.15 – Concentração de metano no reator alimentado com fenol sem exposição a inativação com UV - Controle.**



**FIGURA 5.16 – Concentração de metano no reator alimentado com acetato sem exposição a inativação com UV - Controle.**

A partir da variação temporal da concentração de metano no experimento, como apresentado nas Figuras 5.12 a 5.16, foi obtido o valor da velocidade máxima de produção de metano,  $R_{m\acute{a}x.}$ , para as condições estudadas.

A velocidade máxima de produção de metano foi obtida considerando que:

$$R_{m\acute{a}x.} = \frac{dC}{dt} = 0 \quad (5.1)$$

Foi calculada também a velocidade média de produção de metano durante o tempo de duração do experimento da seguinte maneira:

$$R_{m\acute{e}d.} = \frac{\int_{t_0}^t R dt}{\int_{t_0}^t dt} \quad (5.2)$$

As velocidades máxima e média de produção de metano foram calculadas utilizando-se o programa Origin 5.0<sup>®</sup>.

As Tabelas 5.9 e 5.10 apresentam os resultados encontrados, para cada uma das condições estudadas.

Observando-se os valores constantes na Tabela 5.9, pode-se concluir que não houve diferença significativa entre as velocidades média de produção de metano, nos

reatores alimentados com fenol e biomassa imobilizada, para os tempos de 40 e 90 minutos de exposição à luz ultravioleta.

**TABELA 5.9 – Resultados das velocidades máxima e média de produção de metano nos reatores alimentados com fenol e acetato e expostos a UV.**

Velocidade de produção de metano (gCH <sub>4</sub> / L.h)	Fenol		Acetato
	40 minutos	90 minutos	90 minutos
Máxima	0,01661	0,020	0,42814
Média	0,0058	0,0058	0,09369

**TABELA 5.10 – Resultados das velocidades máxima e média de produção de metano nos reatores alimentados com fenol e acetato sem exposição a UV – Controle.**

Velocidade de produção de metano (gCH <sub>4</sub> / L.h)	Controle	
	Fenol	Acetato
Máxima	0,06849	0,54817
Média	0,022	0,2153

Portanto, é possível que um tempo menor de exposição, à luz ultravioleta, fosse suficiente para inativar os microrganismos presentes nas biopartículas de espuma de poliuretano, para as condições estudadas.

Observa-se que, nos reatores alimentados com fenol, a velocidade média de produção de metano foi baixa, quando comparada com a velocidade média de produção de metano no reator alimentado com acetato, que é precursor direto da metanogênese. Por outro lado, o fenol pode exercer efeito inibitório à metanogênese, além de não ser substrato para organismos metanogênicos.

Comparando-se os resultados dos reatores alimentados com fenol e acetato que sofreram inativação, com seus respectivos reatores controle, como mostrado na Tabela 5.10, observa-se que a inativação atingida foi relativamente alta, pois, a velocidade média de produção de metano foi 4 vezes mais lenta nos reatores

alimentados com fenol e 2 vezes mais lenta no reator alimentado com acetato. No entanto, considera-se que, embora a inativação não tenha sido completa, houve o retardamento da atividade das células metanogênicas. Tendo em vista a duração do ensaio de adsorção e o tempo em que as células se mantiveram inativas, pode-se garantir que não ocorreu atividade metanogênica significativa durante a realização do ensaio.

### 5.7- Estudos cinéticos em reator diferencial

Foram realizados ensaios cinéticos em reator diferencial com concentrações de fenol de 103 mg/L, 291 mg/L e 612 mg/L, para avaliar a influência da velocidade superficial de líquido ( $V_s$ ), sobre a velocidade de consumo de substrato.

No entanto, foi observado que a velocidade superficial de líquido e, conseqüentemente, o fluxo de transferência de massa na fase líquida não influenciou a cinética, indicando que as etapas que limitaram a velocidade global de conversão foram a transferência de massa interna e/ou os processos bioquímicos. Desse modo, os experimentos com diferentes  $V_s$ , resultando em dados similares, foram encarados como réplicas, possibilitando a obtenção de perfis médios de concentração de fenol para concentrações iniciais de 103 mg/L, 291 mg/L e 612 mg/L, como apresentado na Tabela 5.11.

Para as concentrações de fenol encontradas em cada experimento, os resultados obtidos serão apresentados em termos de massa, considerando o volume existente de substrato no reator diferencial.

Expressões foram ajustadas a cada perfil experimental de massa de fenol ( $M_F$ ), em função do tempo ( $t$ ), para obtenção das velocidades iniciais globais de reação. As expressões ajustadas para cada experimento são apresentadas a seguir:

Para massa inicial de fenol de 82 mg:

$$M_F = 1,11 \times 10^{-16} t^2 - 3,7 t + 81,8 \quad (5.3)$$

$$R^2 = 0,9993$$

Para massa inicial de fenol de 232 mg:

$$M_F = 1,13 t^2 - 14,65 t + 231,8 \quad (5.4)$$

$$R^2 = 0,9971$$

Para massa inicial de fenol de 489 mg:

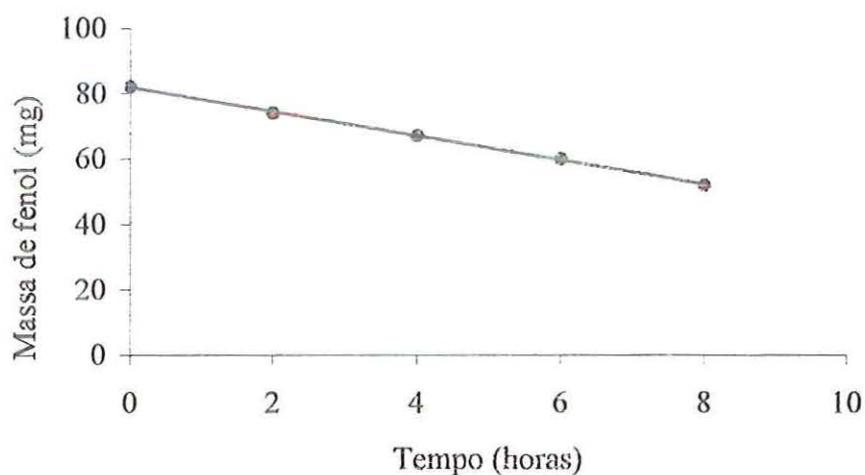
$$M_F = 0,52 t^2 - 13,493 t + 489,94 \quad (5.5)$$

$$R^2 = 0,9905$$

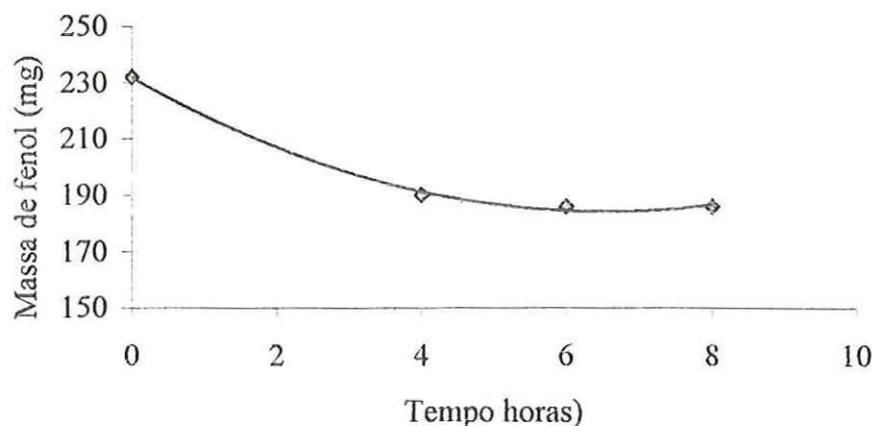
**TABELA 5.11 – Perfis temporais médios de massa de fenol na fase líquida obtidos em reator diferencial para diferentes concentrações iniciais.**

Tempo (h)	Massa de Fenol (mg) nas diferentes concentrações de fenol estudadas (mg/L)		
	103	291	612
0	82±2	232±17	489±23
2	74±2	192±16	466±13
4	67±4	190±31	447±17
6	60±4	186±18	423±35
8	52±8	188±25	417±29

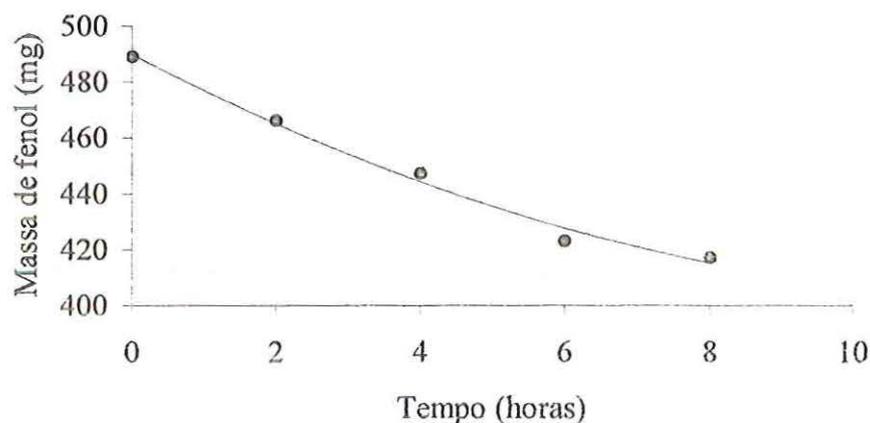
Os ajustes das expressões (5.3), (5.4) e (5.5) aos pontos experimentais são apresentados nas Figuras 5.17, 5.18 e 5.19, respectivamente.



**FIGURA 5.17 – Perfil experimental de massa de fenol na fase líquida em função do tempo. Concentração inicial de fenol = 103mg/L.**



**FIGURA 5.18** – Perfil experimental de massa de fenol na fase líquida em função do tempo. Concentração inicial de fenol = 291 mg/L.



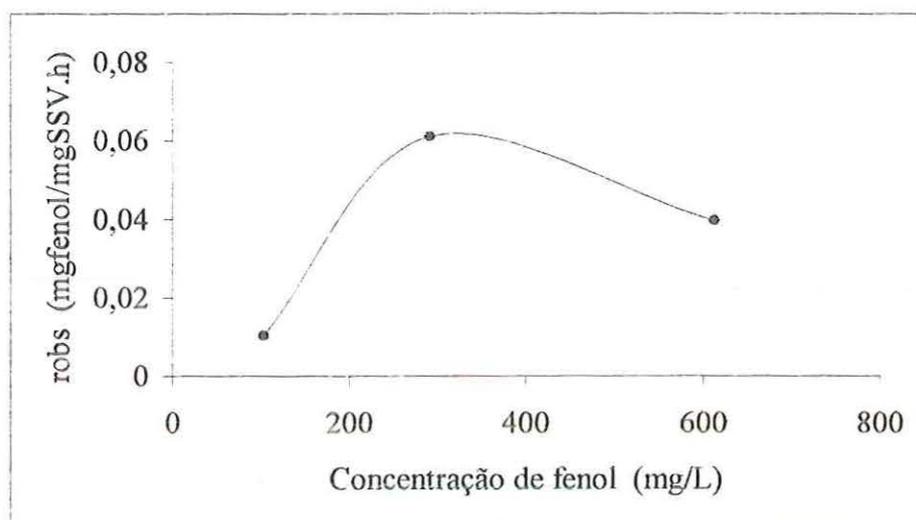
**FIGURA 5.19** – Perfil experimental de massa de fenol na fase líquida em função do tempo. Concentração inicial de fenol = 612 mg/L.

As velocidades iniciais de utilização de substrato observadas ( $R_{\text{obs}}|_{t=0}$ ) para cada condição foram determinadas através da derivada das expressões (5.3) a (5.5), por unidade de volume, considerando o tempo zero ( $t = 0$ ). As velocidades específicas iniciais de utilização de substrato observadas ( $r_{\text{obs}}|_{t=0}$ ) foram obtidas através da relação entre ( $R_{\text{obs}}|_{t=0}$ ) e a concentração de biomassa, em relação ao volume líquido do sistema ( $X$ ). Os resultados são apresentados na Tabela 5.12.

**TABELA 5.12 – Valores das velocidades iniciais de utilização de substrato em função da concentração inicial de fenol aplicada ao reator diferencial.**

$C_F$ (mg/L)	M <sub>ssv</sub> (mg)	$R_{obs}$ (mg/h)	$r_{obs}$ (mgfenol/mgSSV.h)
103	360	3,7	0,01028
291	240	14,65	0,06104
612	340	13,49	0,03967

O perfil de  $r_{obs}$  em função da concentração é apresentado na Figura 5.20.



**FIGURA 5.20 – Perfil experimental da concentração de fenol na fase líquida em função de  $r_{obs}$ .**

Sabe-se que a velocidade de crescimento dos microrganismos depende da concentração do substrato, que é proporcional à velocidade de utilização do substrato e à concentração dos microrganismos presentes no sistema. Portanto, a altas concentrações de substrato, sua velocidade específica de utilização tende a diminuir, ocorrendo o fenômeno de “Inibição pelo Substrato”.

Provavelmente esse fenômeno aconteceu no experimento após adição de 291 mg/L de fenol ao reator, como observado na Tabela 5.12 e Figura 5.20, quando ocorreu diminuição da velocidade específica de utilização do substrato.

No entanto, apesar dessa observação, é necessário a realização de outros estudos utilizando faixas mais amplas de concentração de fenol e espaços maiores de tempo na amostragem, para obter maior precisão dos resultados.

### 5.8 – Avaliação da cinética de degradação de fenol no RAHLF

#### 5.8.1 – Variação da concentração de fenol ao longo do RAHLF

A degradação de fenol foi avaliada através do perfil de sua concentração ao longo do RAHLF. Na Figura 5.21 estão apresentados os perfis para as concentrações de fenol estudadas.

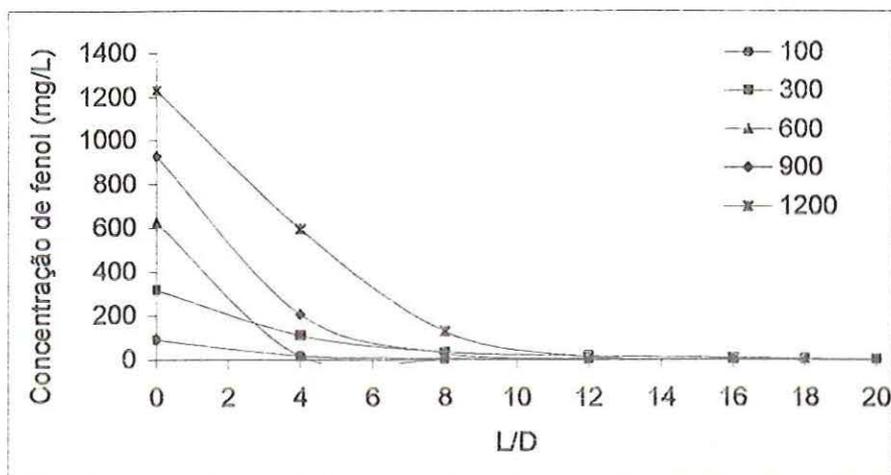


FIGURA 5.21 – Variação da concentração de fenol ao longo do RAHLF.

A partir dos perfis de concentração de fenol na fase líquida ( $C_F$ ) ao longo do RAHLF, foram obtidos os parâmetros cinéticos aparentes para as condições de operação do reator.

A cada perfil foi ajustada uma expressão utilizando-se aplicativo Microcal Origin 5.0<sup>®</sup> através do método de ajuste não linear de Levenberg-Marquardt. Essas expressões estão apresentadas na Tabela 5.13 com os respectivos coeficientes de correlação.

**TABELA 5.13 -- Expressões ajustadas para os perfis das diferentes concentrações de fenol aplicadas ao RAHLF.**

Concentração de fenol (mg/L)	Expressão ajustada	Coefficiente de correlação
90,5	$C_F = 90,38.e^{-0,39093.L/D}$	0,99786
318,65	$C_F = 318,69.e^{-0,26331.L/D}$	0,99934
624,14	$C_F = 624,74.e^{-0,90753.L/D}$	0,9999
921,66	$C_F = 928,39.e^{-0,38169.L/D}$	0,99962
1229,86	$C_F = 1252,35.e^{-0,2302.L/D}$	0,98493

Apesar do bom coeficiente de correlação obtido com o ajuste, para a concentração de 624 mg/L, apenas dois pontos foram representativos para o ajuste, implicando em dificuldades na análise cinética deste experimento, comprometendo a estimativa das velocidades de reação e dos parâmetros cinéticos aparentes.

### 5.8.2 – Determinação da velocidade global de reação $R_{obs}$

O reator foi considerado como tubular ideal, baseado nos estudos hidrodinâmicos realizados por CABRAL, (1995). Portanto, o balanço de massa em regime permanente resultou em:

$$R_{obs} = \frac{-\varepsilon_s v_s}{D} \cdot \frac{dC_F}{d(L/D)} \quad (5.6)$$

Em que:

$R_{obs}$  = Velocidade global de reação, (M).(L)<sup>-1</sup>(T)<sup>-1</sup>

$\varepsilon$  = porosidade do leito

$v_s$  = Velocidade superficial de líquido, (L).(T)<sup>-1</sup>

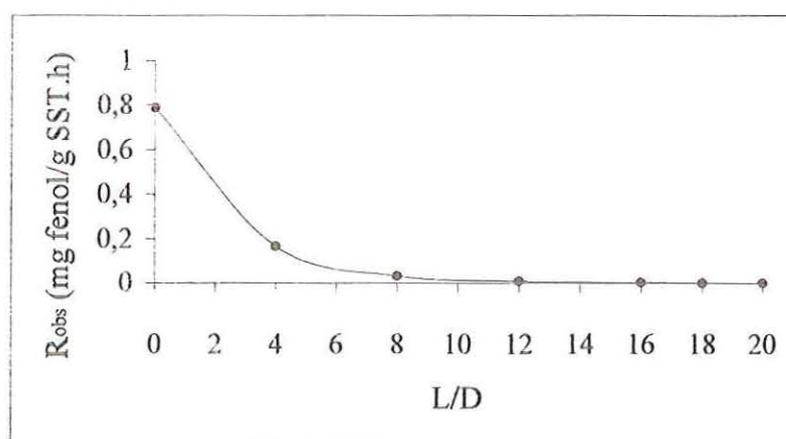
D = diâmetro do RAHLF, (L)

$C_F$  = Concentração de fenol na fase líquida numa determinada posição  
Longitudinal L/D, (M).(L)<sup>-3</sup>

A partir dessas expressões foram obtidos os valores de  $R_{obs}$  pela expressão 5.6 para  $v_s$  igual a 8,12 cm/h. Para o cálculo da velocidade específica global de reação foi considerada a concentração média de biomassa como 28847 mg SST/L, utilizando o volume total do reator. O valor da concentração de biomassa expressa em função do volume de espuma foi de 48 mg SST/mL. Esses valores estão apresentados nas Tabelas 5.14 – 5.18. A variação desses valores pode-ser observada nas Figuras 5.22 – 5.26.

**TABELA 5.14 – Valores de velocidade específica global de reação  $R_{obs}$  em função da concentração de fenol ( $C_F$ ) ao longo do RAHLF – 90,5 mg/L.**

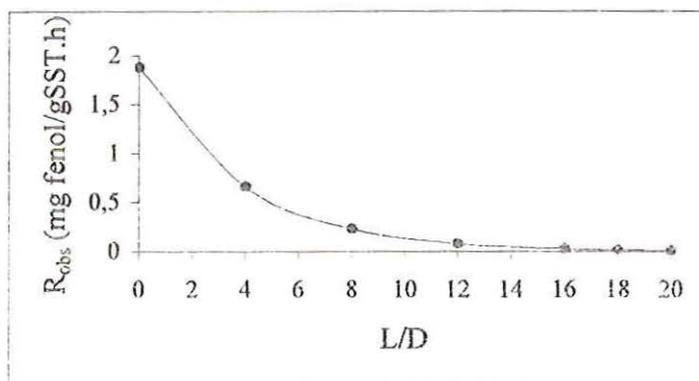
L/D	$C_F$ (mg/L)	$R_{obs}$ (mg fenol/L.h)	$R_{obs}$ (mg fenol/gSST.h)
0	35,3	22,75	0,789
4	7,40	4,77	0,165
8	1,45	0,93	0,032
12	0,32	0,21	0,007
16	0,07	0,05	0,002
18	0,03	0,02	0,0007
20	0,01	0,006	0,0002



**FIGURA 5.22- Variação da velocidade específica global de reação ao longo do RAHLF – 90,5 mg/L.**

**TABELA 5.15 – Valores de velocidade específica global de reação  $R_{obs}$  em função da concentração de fenol ( $C_F$ ) ao longo do RAHLF – 318,65 mg/L.**

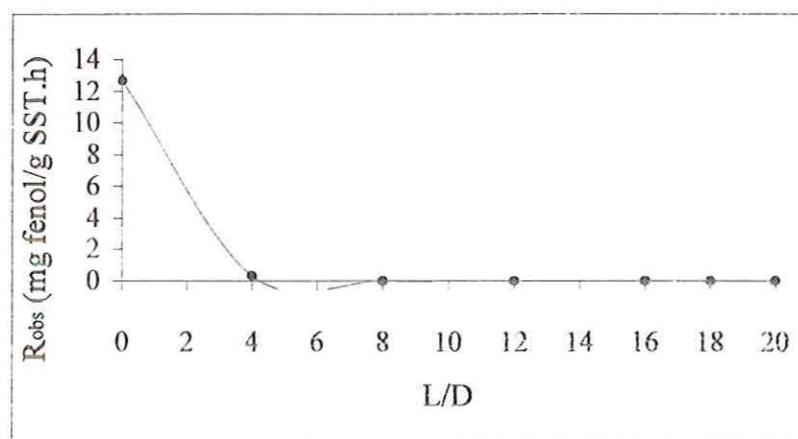
L/D	$C_F$ (mg/L)	$R_{obs}$ (mgfenol/L.h)	$R_{obs}$ (mgfenol/gSST.h)
0	83,92	54,08	1,875
4	29,27	18,86	0,654
8	10,21	6,58	0,228
12	3,56	2,29	0,079
16	1,24	0,80	0,28
18	0,73	0,47	0,016
20	0,43	0,28	0,009



**FIGURA 5.23 - Variação da velocidade específica global de reação ao longo do RAHLF – 318,65 mg/L.**

**TABELA 5.16 – valores de velocidade específica global de reação  $r_{obs}$  em função da concentração de fenol ( $C_F$ ) ao longo do RAHLF – 624,14 mg/l.**

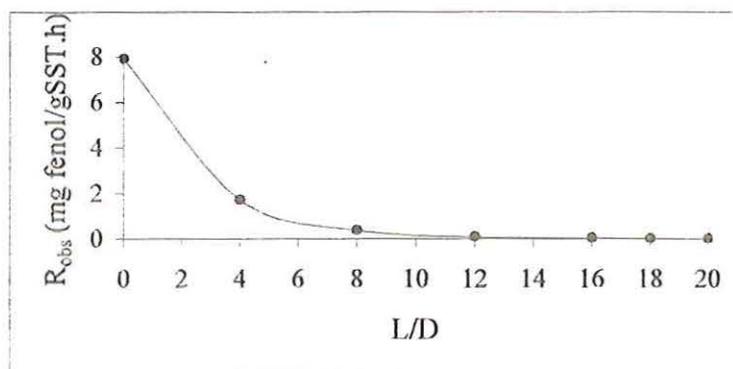
L/D	$C_F$ (mg/L)	$R_{obs}$ (mg fenol/L.h)	$R_{obs}$ (mgfenol/gSST.h)
0	566,97	365,38	12,666
4	15,03	9,69	0,336
8	0,40	0,26	0,009
12	0,01	0,006	0,0002
16	0,0003	0,0002	6,933E-06
18	0,00005	0,00003	1,039E-06
20	0,000007	0,000005	1,733E-07



**FIGURA 5.24 - Variação da velocidade específica global de reação ao longo do RAHLF – 624,14 mg/L.**

**TABELA 5.17 – Valores de velocidade específica global de reação  $R_{obs}$  em função da concentração de fenol ( $C_F$ ) ao longo do RAHLF – 927,66 mg/L.**

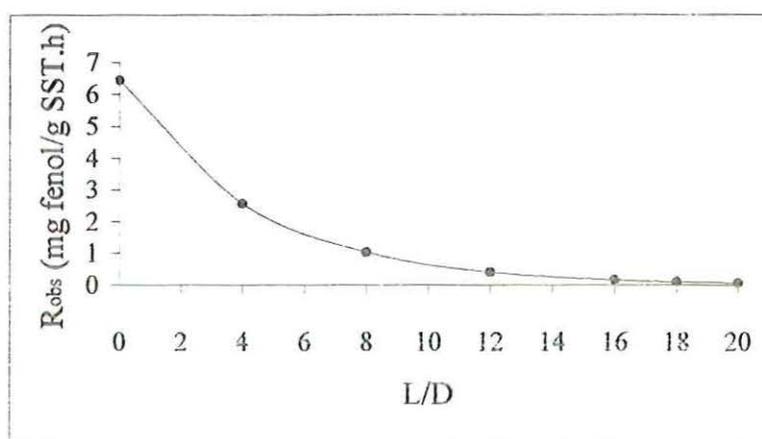
L/D	$C_F$ (mg/L)	$R_{obs}$ (mg fenol/L.h)	$R_{obs}$ (mg fenol/gSST.h)
0	354,35	228,36	7,916
4	76,98	49,61	1,719
8	16,72	10,78	0,374
12	3,63	2,34	0,081
16	0,79	0,51	0,018
18	0,37	0,24	0,0083
20	0,17	0,11	0,0038



**FIGURA 5.25 - Variação da velocidade específica global de reação ao longo do RAHLF – 927,66 mg/L.**

**TABELA 5.18 – Valores de velocidade específica global de reação  $R_{obs}$  em função da concentração de fenol ( $C_F$ ) ao longo do RAHLF – 1229,86 mg/L.**

L/D	$C_F$ (mg/L)	$R_{obs}$ (mg fenol/L.h)	$R_{obs}$ (mg fenol/gSST.h)
0	288,29	185,79	6,441
4	114,80	73,98	2,565
8	45,71	29,46	1,021
12	18,20	11,73	0,407
16	7,25	4,67	0,162
18	4,57	2,95	0,102
20	2,89	1,86	0,064



**FIGURA 5.26 - Variação da velocidade específica global de reação ao longo do RAHLF – 1229,86 mg/L.**

Nas Figuras 5.22 a 5.26, pode-se observar que a velocidade específica global de reação da degradação de fenol no RAHLF, permaneceu praticamente constante num valor próximo de zero para a relação L/D entre 8 e 12.

Esse resultado é importante já que indica que após a metade do reator ( $L/D = 10$ , tempo de detenção hidráulica de 6 horas), a degradação de fenol foi mínima, indicando que a degradação do mesmo acontece na primeira parte do reator.

Para efeitos de otimização do reator, esse resultado é interessante já que permite se vislumbrar a diminuição do tempo de detenção hidráulica e, portanto, do tamanho do sistema.

### 5.8.3 – Determinação da constante cinética aparente de primeira ordem

Considerando modelo cinético de primeira ordem, foi calculado o valor da constante cinética aparente de primeira ordem ( $K_1^{app}$ ), para as concentrações de fenol estudadas, utilizando-se a seguinte equação (ZAIAT & FORESTI, 1997):

$$K_1^{app} \cdot C_F = -\frac{\varepsilon \cdot V_s}{D} \cdot \frac{dC_F}{d\left(\frac{L}{D}\right)} \quad (5.7)$$

Em que:

$$K_1^{app} = \text{Constante cinética aparente de primeira ordem (T}^{-1}\text{)}$$

Integrando-se a equação 5.7, obtêm-se:

$$C_F = C_{F_0} \ell^{-\frac{K_1^{app} D \left(\frac{L}{D}\right)}{\varepsilon V_s}} \quad (5.8)$$

A partir da equação (5.8) foi obtido o valor de  $K_1^{app}$  através dos ajustes apresentados na Tabela 5.13. A Tabela 5.19 apresenta esses resultados. A concentração da biomassa utilizada foi calculada considerando-se o volume total do reator (28847 mg SST/L).

**TABELA 5.19 – Valores da constante cinética aparente de primeira ordem ( $K_1^{app}$ ).**

$C_F$ (mg/L)	$K_1^{app} \cdot D / \varepsilon \cdot V_s$	$K_1^{app}$ (h <sup>-1</sup> )	$K_1^{app}$ (L.mg SST <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )
90,5	0,39093	0,252	8,74 E-06
318,65	0,26331	0,170	5,89 E-06
624,14	0,90753	0,585	2,03 E-06
921,66	0,38169	0,246	8,53 E-06
1229,86	0,2302	0,148	5,13 E-06

Para calcular o valor médio da constante cinética aparente de primeira ordem, não foi considerado o resultado encontrado para a concentração de 624,14 mg/L, por ser um valor pouco confiável e estar fora da ordem de grandeza dos outros valores. O valor médio de  $K_1^{app}$  foi de  $0,204 \pm 0,053 \text{ h}^{-1}$  ou  $7,07 \times 10^{-6} \pm 1,83 \times 10^{-6} \text{ L.mg SST}^{-1}.\text{h}^{-1}$ .

O valor médio foi obtido considerando que não há variação significativa na população microbiana ao longo do experimento, conforme constatado através de exames microscópicos. No entanto, para concentração afluyente de 1229,86 mg/L, o valor mais baixo obtido para a constante cinética, pode indicar uma ligeira inibição, notada por uma perda de qualidade do lodo no reator.

VIEIRA, (1996) encontrou que, utilizando glicose como principal fonte de carbono, a constante cinética aparente de primeira ordem variou ao longo do reator de  $8,94 \times 10^{-5}$  a  $1,51 \times 10^{-5} \text{ L.mg SSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$ .

Esse resultado de  $K_1^{app}$  está expresso em função de SSV enquanto que o resultado obtido nesta pesquisa está expresso em função de SST.

Considerando-se que a relação SSV/SST varia em geral de 0,65 a 0,75, o resultado obtido nesta pesquisa comparando em termos de ordem de grandeza é menor 8,9 vezes, valor esperado considerando ser o fenol um tóxico e a glicose um substrato de fácil degradação.

## 6 – CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através dos experimentos realizados neste trabalho permitem concluir que:

- a) O RAHLF apresentou excelente desempenho quando submetido ao aumento gradativo da concentração de fenol como única fonte de carbono. Obteve-se eficiência máxima de remoção de DQO de 99% para carga orgânica de 5,7 kg DQO/m<sup>3</sup>-dia, baseada no volume líquido do reator;
- b) As análises do biogás, nas três últimas fases do experimento, apresentaram valores de porcentagem de metano acima de 60%, indicando que o processo metanogênico constituiu-se em etapa da degradação anaeróbia de fenol no RAHLF, tendo ocorrido mesmo a concentrações elevadas de fenol;
- c) Pequenas alterações de desempenho, de curta duração, foram observadas ao longo da operação do reator, indicando a possibilidade de ocorrência de inibição de pequena intensidade. No entanto, esses efeitos não persistiram em nenhuma das etapas. Pelo contrário, os melhores valores de desempenho ocorreram para concentrações mais elevadas, nas etapas finais;
- d) Demonstrou-se que o RAHLF pode ser utilizado no tratamento de águas residuárias contendo fenol para a faixa de concentrações utilizadas neste estudo. A máxima eficiência de remoção de fenol de 99% ocorreu para carga orgânica de 2,4 g fenol/L-dia, TDH de 12,3 horas, pH entre 7,8 e 8,5 e temperatura de 30 ± 1 °C;

- e) As altas eficiências de remoção de fenol apresentadas durante todo o experimento e a adaptação do RAHLF em tempos relativamente curtos deveu-se, provavelmente, à utilização de biomassa imobilizada, conforme já indicado pela literatura;
- f) O bom desempenho do RAHLF, operado com biomassa imobilizada em matrizes de espuma de poliuretano, indicam a possível aplicação deste reator para propósitos de biorremediação;
- g) Exames microscópicos revelaram a existência de relação sintrófica entre os organismos que participam do processo, com predomínio de três grupos morfológicos: coco-bacilos responsáveis pela oxidação de fenol, *Methanosaeta* acetoclástica e organismos hidrogenotróficos, provavelmente *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter* e *Methanococcus*. É importante destacar que durante todas as fases de operação, observou-se a predominância de *Methanosaeta*.
- h) Os ensaios cinéticos, realizados em reator diferencial, mostraram que a velocidade específica de utilização do substrato diminuiu para concentrações superiores a 291 mg/L de fenol. É possível que o fenômeno de inibição pelo substrato tenha ocorrido nos ensaios em reator diferencial, uma vez que este fenômeno não foi observado no RAHLF de bancada;
- i) O ensaio de adsorção no lodo imobilizado mostrou que a quantidade de fenol adsorvida foi desprezível, quando comparada à removida e à capacidade de adsorção de fenol pela espuma de poliuretano. Pode-se afirmar, portanto que, além de ter sido convertido a produtos intermediários, o fenol foi efetivamente removido do meio líquido;
- j) O estudo cinético da degradação de fenol ao longo do RAHLF, mostrou que sua degradação foi efetiva na primeira metade do reator (tempo de detenção de 6 horas), já que as velocidades específicas globais de reação foram mínimas após esse sector do reator;

- k) A constante cinética aparente foi estimada a partir de modelo cinético de primeira ordem dando um valor médio de  $0,204 \pm 0,053 \text{ h}^{-1}$  ou  $7,07 \times 10^{-6} \pm 1,83 \times 10^{-6} \text{ L.mg SST}^{-1}.\text{h}^{-1}$ , para as concentrações de fenol estudadas.

## **7 – RECOMENDAÇÕES**

### **7.1 – Sugestões operacionais**

Visando o aperfeiçoamento da unidade e da metodologia sugere-se:

- a) Aperfeiçoar o sistema de tomada de amostras para evitar a retirada de misturas gás-líquido;
- b) Aumentar o diâmetro dos dutos da saída de gases objetivando reduzir a pressurização do reator

### **7.2 – Sugestões para estudos futuros**

Sugere-se para continuidade do estudo:

- a) Estudar a rota metabólica de degradação do fenol para identificar os produtos intermediários;
- b) Otimizar o desempenho do RAHLF, visando encontrar o melhor TDH que deve ser aplicado, para cada concentração afluente. Esta otimização permitiria estabelecer os limites do processo, levando à construção de unidades com tamanho menor e à obtenção de dados de toxicidade e de inibição celular;
- c) Realizar ensaios cinéticos em reator diferencial abrangendo faixas mais amplas de concentração de fenol e com intervalos maiores de tempo na amostragem, para se obter maior precisão nos resultados;
- d) Avaliar a influência da temperatura no desempenho do reator;

- e) Estudar o comportamento do reator com a introdução de distribuidores e chicanas como para distribuição do líquido;
- f) Quantificar o comportamento do processo em função da velocidade superficial de líquido e porosidade do leito no RAHLF
- g) Aplicar modelo de dispersão e tanques em série objetivando trabalhos em escala real;
- h) Utilizar traçadores para avaliar a hidrodinâmica do RAHLF com compostos tóxicos.

## **ANEXO A**

## **DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS VOLÁTEIS - MÉTODO TITULOMÉTRICO**

O acúmulo de ácidos orgânicos voláteis indica desbalanceamento entre velocidades de consumo de matéria orgânica pelos diferentes tipos de bactérias responsáveis por desempenho adequado do sistema de tratamento.

Quando a concentração de ácidos voláteis ultrapassa cerca de 500 mg/L, ou melhor, quando não existe mais efeito tampão devido à ausência de alcalinidade a bicarbonato, há probabilidade de ocorrência de problemas graves com o sistema de tratamento, devidos à diminuição do pH. A determinação de ácidos voláteis pode ser realizada por cromatografia gasosa ou por meio de métodos titulométricos, que consistem em:

### **1- MÉTODO POTENCIOMÉTRICO**

- **Materiais**

Copos de Becker de 100 ml

Eletrodo de vidro ou eletrodo de platina

Medidor de pH pré-calibrado ou condutivímetro

2 buretas de 50 ml

1 bureta de 10 ml

Chapa aquecedora ajustável

Centrífuga ou bomba de vácuo

Agitador magnético

#### **1.1- Titulação utilizando pHmêtro**

- **Reagentes**

Solução padronizada de hidróxido de sódio aproximadamente 0,020 N.

##### **1.1.1 - Procedimento Experimental**

- Centrifugar (2500 rpm por 10 minutos) ou filtrar a amostra para remoção dos sólidos em suspensão.

- Transferir 50,0 ml de amostra para copo de Becker e medir o pH.
- Abaixar o pH até menor que 3,0 com solução padronizada de ácido sulfúrico ~ 0,04 N. *Desprezar o volume gasto.* (A redução do pH até 3,0 destruirá os íons bicarbonatos.)
- Aquecer em chapa elétrica, cronometrar 3 minutos após fervura (remoção de ácido carbônico).

A fervura da amostra remove todo o ácido carbônico e CO<sub>2</sub> remanescente na solução.



**OBSERVAÇÃO:** O tempo de fervura de 3 minutos foi estabelecido para remoção de CO<sub>2</sub>.

- Resfriar, corrigir o pH até 4,0, com hidróxido de sódio ~ 0,020N.
- Titular com hidróxido de sódio ~ 0,02 N de pH 4,0 até pH 7,0. *Anotar o volume gasto.*

A adição de NaOH entre pH de 4,0 até 7,0 permite sua reação, principalmente, com os ácidos orgânicos e outros ácidos fracos presentes, geralmente presentes em concentrações muito baixas.



### 1.1.2 - Cálculo da concentração de ácidos voláteis, como ácido acético

$$\text{mg/L HAc} = \frac{V * N * 60,000}{V_a}$$

sendo: V = volume gasto de NaOH de pH 4,0 até 7,0

N = normalidade do NaOH

V<sub>a</sub> = volume da amostra (50 ml)

**OBSERVAÇÃO:** O método titulométrico, embora não seja adequado a trabalhos que exijam elevada precisão, pode ser utilizado para monitoramento de sistemas de digestão anaeróbia pela sua facilidade de execução.

## 1.2 – Titulação utilizando condutivímetro

### Reagentes

Solução padronizada de ácido sulfúrico aproximadamente 0,040 N.

### 1.2.1 - Procedimento experimental

Para determinação de ácidos voláteis:

- Transferir 50,0 ml da amostra filtrada para o copo de Becker
- Introduzir a barra magnética e o eletrodo de platina
- Ler a condutividade elétrica inicial da amostra e as obtidas após adição de volumes conhecidos de solução de  $H_2SO_4 \sim 0,040 N$
- Montar gráfico com condutividades elétricas corrigidas e volumes adicionados de solução de  $H_2SO_4 \sim 0,040 N$ .

### 1.2.2 - Cálculos

$$\text{mg/L de alcalinidade total como } CaCO_3 = \frac{V \cdot N \cdot 50.000}{V_a}$$

mg/L de ácidos voláteis,

$$\text{como ácido acético} = \frac{(V_{\text{ácidos}} \cdot N_{\text{ácido}} - V_{\text{base}} \cdot N_{\text{base}}) \times 60.000}{V_a}$$

## PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES

### 1 - Solução padronizada de hidróxido de sódio (0,05 N)

#### Preparação:

Em um Becker limpo e seco (por exemplo 250 ml) dissolver 2,0g de NaOH com água destilada. Resfriar, transferir a solução e águas de lavagem para balão volumétrico de 1000 ml. Completar o volume do balão até a marca com água destilada. Agitar para homogeneização.

#### Padronização:

- Deixar o biftalato de potássio em estufa a 100 graus Centígrados, por 24 horas
- Pesar, com precisão, massas em torno de 0,051 g, de biftalato (padrão primário) em frascos de erlenmeyer de 125 ml. Essa massa foi calculada para um consumo teórico de 5,0 ml de solução de NaOH, da seguinte maneira:

$$N = \frac{m}{Eq * V (L)} \quad Eq = mol / K$$

sendo:

m = massa do ácido, g

Mol do biftalato = 204,22 g/mol

K = número de hidrogênios ionizáveis

V = volume, L

$$0,05 N = \frac{m}{(204,22) * 0,005L} \quad \Rightarrow \quad m = 0,051 g$$

- Acrescentar aproximadamente 50 ml de água destilada
- Acrescentar 3 gotas de fenolftaleína (solução indicadora), à solução de biftalato de potássio
- Titular com a solução preparada de NaOH, gastando aproximadamente 5 ml
- A solução passará de incolor à rósea clara, quando o volume gasto de NaOH deverá
- Calcular a média dos volumes de solução de NaOH gastos. Dessa forma, a molaridade e a normalidade da solução base são obtidas a partir da equação:

$$N_{\text{ácido}} * V_{\text{ácido}} = N_{\text{base}} * V_{\text{base}}$$

$$0,1000 \text{ N} * V_{\text{obtido na titulação (mL)}} = N_{\text{base}} * 10 \text{ ml}$$

Por exemplo, para  $V = 9,98 \text{ ml}$ :

$$0,1000 \text{ N} * 9,98 \text{ (ml)} = N_{\text{base}} * 10 \text{ ml} \Rightarrow N_{\text{base}} = 0,0998 \text{ N}$$

## 2 - Solução padronizada de ácido sulfúrico (1 N)

### Preparação:

- Transferir, cuidadosamente, 28 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (concentrado) para um copo de Becker de 1000 ml, contendo aproximadamente 700 ml de água destilada. O volume de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  é assim calculado:

$$N = \frac{m}{\text{Eq} * V \text{ (L)}} \quad \text{Eq} = \text{mol /K}$$

sendo:

$m$  = massa do ácido, g

Mol do ácido sulfúrico = 98,08 g/mol

$K$  = número de hidrogênios ionizáveis = 2

$V$  = volume, L

$$1 \text{ N} = \frac{m}{(98,08/2) * 1 \text{ L}} \quad \Rightarrow \quad m = 49,04 \text{ g}$$

$$d = m/V \quad \Rightarrow \quad V = m/d = 49,04 \text{ (g)} / 1,84 \text{ (g/cm}^3\text{)} = 27 \text{ ml}$$

27 ml - 96% de pureza

$$V' \quad - \quad 100 \% \quad \Rightarrow \quad V' = 28 \text{ ml}$$

- Resfriar a solução até temperatura ambiente. Transferir a solução e as águas de lavagem para balão volumétrico de 1000 ml. Completar o balão volumétrico até a marca com água destilada e agitar para homogeneização.
- Diluir esta solução conforme a necessidade, seguindo o exemplo:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$1,0 \cdot V_1 = 0,1 \cdot 1000 \Rightarrow V_1 = 100 \text{ ml}$$

- Transferir 100 ml da solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,0 N para um balão volumétrico de 1000 ml, completando o volume com água destilada até a marca do balão.
- Carregar a bureta de 10 ml, por exemplo, com a solução de NaOH padronizada anteriormente.
- Em copos de Erlenmeyer de 125 ml adicionar alíquotas 10,0 ml da solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a ser padronizada e 3 gotas de solução indicadora de fenolftaleína. A solução tornar-se-á incolor.
- Titular a solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (colocada sobre fundo branco), com a solução de NaOH até o aparecimento da primeira leve coloração rósea persistente. *Anotar o volume gasto*. Repetir o procedimento por pelo menos mais uma vez, anotando o volume gasto. Calcular a média dos volumes gastos.
- Cálculos:

$$N_{\text{ácido}} \cdot V_{\text{ácido}} = N_{\text{base}} \cdot V_{\text{base}}$$

$$N_{\text{ácido}} \cdot 10 \text{ (ml)} = N_{\text{base}} \cdot V_{\text{obtido na titulação (mL)}}$$

Por exemplo, para  $V_{\text{base}} = 10,1 \text{ ml}$ :

$$N_{\text{ácido}} \cdot 10 \text{ (ml)} = N_{\text{base}} \cdot 10,1 \text{ ml} \Rightarrow N_{\text{base}} = 0,1008 \text{ N}$$

**ANEXO B**

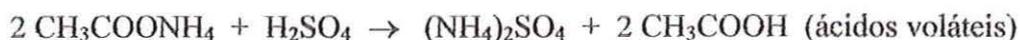
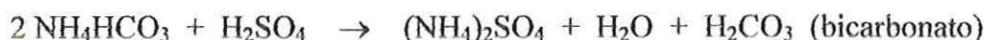
## DETERMINAÇÃO DE ALCALINIDADE - MÉTODO TITULOMÉTRICO

A alcalinidade é uma medida da capacidade que as águas apresentam em neutralizar ácidos devido a presença de bases, sais de ácidos fracos (bicarbonatos, boratos, silicatos e fosfatos) e de sais de ácidos orgânicos (ácidos húmicos e, no caso de águas poluídas, ácidos voláteis: acético, propiônico, butírico, entre outros).

Os métodos mais comumente empregados na determinação da alcalinidade são o titulométrico, potenciométrico (até um pH pré-fixado, ou através de curva de titulação potenciométrica, quando o ponto final é determinado graficamente), ou condutimetricamente, quando o ponto final é determinado apenas graficamente.

A determinação da alcalinidade total, por potenciometria ou por condutimetria, é feita por titulação com solução padronizada de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Na titulação até pH 4,3 (alcalinidade total), as seguintes reações ocorrem:



### • Materiais

Copos de Becker de 100 ml

Pipetas volumétricas de 50 ml

Multi bureta ou bureta automática

Pisseta com água destilada

Agitador magnético

Papel absorvente

pHmetro pré-calibrado ou Condutivímetro

Eletrodo de vidro ou eletrodo de platina

- **Reagentes**

Solução padronizada de ácido sulfúrico (N aproximadamente 0,0400 N) - ver metodologia em ácidos voláteis – Anexo A.

## 1- Titulação utilizando pHmetro

### 1.1 - Procedimento Experimental

- Centrifugar (2500 rpm por 10 minutos) ou filtrar a amostra para remoção de sólidos em suspensão.
- Transferir 50,0 ml de amostra a ser analisada para o copo de Becker de 100 ml.
- Retirar o eletrodo da solução de KCl, lavá-lo com água destilada e secá-lo em papel absorvente.
- Introduzir o eletrodo no copo de Becker contendo a amostra.
- Colocar uma barra magnética de modo que esta não toque o eletrodo.
- Ligar o agitador magnético.
- Medir o pH da amostra. Se o pH for superior a 5,75, titule a amostra com solução padronizada de ácido sulfúrico até pH 5,75. *Anote o volume gasto.*
- Continuar a titulação até pH final de 4,3. *Anote o volume gasto.*
- Para pH inferior a 5,75 proceda da mesma maneira acima, até pH final de 4,3. *Anote o volume gasto.*
- Abaixar o pH até menor que 3,0. *Desprezar o volume gasto.* (A redução do pH até 3,0 destruirá os íons bicarbonatos.)
- Retirar o eletrodo da amostra analisada, lave-o com bastante água destilada e coloque-o no copo de Becker contendo solução de KCl.

### 1.2 - Cálculos

A expressão é:

$$\text{mg/L de alcalinidade, como CaCO}_3 = \frac{V * N * 50.000}{V_a}$$

sendo: V = volume de ácido gasto na titulação até pH pré-determinado, ml

N = normalidade do ácido empregado

V<sub>a</sub> = volume da amostra, ml

O monitoramento da alcalinidade a bicarbonato de reatores anaeróbios é muito mais eficaz que o monitoramento do pH, pois enquanto a escala de pH é logarítmica a escala da alcalinidade é linear. Portanto, pequeno abaixamento do pH implica em grande consumo da alcalinidade, resultando em diminuição da capacidade tampão.

A medida direta da alcalinidade a bicarbonato, por titulação com ácido forte, é inviável em amostras que contêm ácidos orgânicos, já que esses compostos encontram-se na forma ionizada e reagem com os prótons, similarmente ao bicarbonato.

Para se obter a alcalinidade a bicarbonato, deve-se descontar, da alcalinidade total, a fração correspondente à alcalinidade a ácidos voláteis, conforme a expressão:

$$AB = AT - 0,833 \times 0,85 AV \Rightarrow AB = AT - 0,71 AV$$

Sendo:

- AB = Alcalinidade a bicarbonato como mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>
- AT = Alcalinidade total como mg CaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>
- AV = Concentração de ácidos voláteis como mg ácido acético.L<sup>-1</sup>
- 0,833 = Fator de correção de conversão da alcalinidade a ácidos voláteis
- 0,85 = Fator de correção, significa que somente 85% da alcalinidade a ácidos voláteis é medida pela titulação até 4,3.

## 2- Titulação utilizando condutivímetro

### 2.1 - Procedimento experimental

Para determinação da concentração de alcalinidade a bicarbonato de efluentes de reatores anaeróbios:

- Transferir 50,0 ml de amostra filtrada para copo de Becker
- Introduzir a barra magnética e o eletrodo de platina ligado ao condutivímetro
- Ler a condutividade elétrica inicial da amostra e as obtidas após adição de volumes conhecidos de solução de NaOH ~ 0,020 N.

- Montar gráfico com condutividades elétricas corrigidas e volumes adicionados da solução de NaOH.

## 2.2 - Cálculo

$$\text{mg/L de HCO}_3^- = \frac{V.N.61.000}{V_a}$$

$$\text{mg/L de HCO}_3^- \text{ como CaCO}_3 = \frac{V.N.50.000}{V_a}$$

## **ANEXO C**

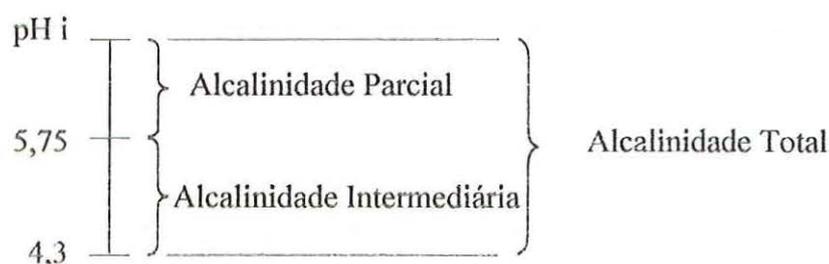
## RELAÇÃO DA ALCALINIDADE INTERMEDIÁRIA E ALCALINIDADE PARCIAL (AI/AP)

Como a estabilidade do processo depende da relação entre a alcalinidade e a concentração de ácidos voláteis, Ripley et. al., (1986), desenvolveram um método de monitoramento que consiste em titular a amostra em dois estágios, assim:

1 - Alcalinidade Parcial (AP) : a amostra é titulada até pH 5,75 titulando ânions de ácidos fracos (bicarbonatos, boratos, silicatos e fosfatos) e representando quase que a totalidade da alcalinidade a bicarbonato.

2 - Alcalinidade Intermediária (AI) : após, a amostra é titulada até pH 4,3 titulando ânions de ácidos orgânicos (ácido húmico, acético, propiônico, etc.), representando a quase totalidade da alcalinidade a ácidos voláteis.

Sendo assim, a alcalinidade total de uma amostra é composta por dois tipos de bases:



Os autores constataram que a relação AI/AP constitui-se em parâmetro extremamente útil, além de simples e preciso, para indicar ocorrência de distúrbios no processo, pois o desbalanceamento na produção de ácidos voláteis provoca aumento da relação AI/AP.

É importante anotar que é possível que a estabilidade do processo ocorra para valores de AI/AP diferentes, dependendo do tipo de água residuária a ser tratada. Os autores encontraram em seus experimentos que valores de AI/AP próximos a 0,3 ocorreram quando o processo se mantinha estável, valores superiores a 0,3 estiveram sempre associados a certa instabilidade do processo, verificada através de outros procedimentos, contudo, este valor constitui-se em referência importante.

## 8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (1995). American Water Works Association & Water Pollution Control Federation. *Standards methods for the examination of water and wastewater*. Washington, 19ed., APHA.

ANGELIDAKI, I.; PETERSEN, S. P. & AHRING, B. K. (1990). Effects of lipids on thermophilic anaerobic digestion and reduction of lipid inhibition upon addition of bentonite. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 33 : 469 – 472.

ATKINSON, B. (1974). *Biochemical reactors*. Pion Limited, London.

ATKINSON, B. & MAVITUNA, F. (1987). *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2<sup>nd</sup> edition. McGraw – Hill, New York.

—▷ BAE, B. ; AUTENRIETH, R. L. & BONNER, J. S. (1995). Kinetics of multiple phenolic compounds degradation with a mixed culture in a continuous-flow reactor. *Water Environment Research*. 67 : 215 – 223.

BEAUDET, R. ; BISAILLON, J. G. ; ISHAQUE, M. & SYLVESTRE, M. (1986). Isolation of anaerobic bacterial consortium degrading phenolic compounds – assay in swine waste. *Agricultural Wastes*. 17 : 131 –140.

BÉCHARD, G. ; BISAILLON, J. G. ; BEAUDET, R. & SYLVESTRE, M. (1990). Degradation of phenol by a bacterial consortium under methanogenic conditions. *Canadian Journal Microbiology*. 36 : 573 –578.

- BIRKETT, A. A. ; JONES, G. P. & MUIR J. G. (1995). Simple high-performance liquid chromatographic analysis of phenol and p-cresol in urine and feces. *Journal of chromatographic B: biomedical applications*. 674 : 187 – 191.
- BISAILLON, J. G. ; LÉPINE, F. ; BEAUDET, R. & SYLVESTRE, M. (1993). Potential for carboxylation – dehydroxylation of phenolic compounds by a methanogenic consortium. *Canadian Journal Microbiology*. 39 : 642 – 648.
- BISAILLON, J. G. ; LÉPINE, F. & BEAUDET, R. (1991). Study of the methanogenic degradation of phenol via carboxylation to benzoate. *Canadian Journal Microbiology*. 37 : 573 – 576.
- BOONE, D. R. & MAH, R. A. (1989). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. *Section 25 archaeobacteria group i. Methanogenic archaeobacteria*. Pp. 2171 – 2253.
- BOYD, S. S. ; SHELTON, D. R. ; BERRY, D. ; TIEDJE, J. M. (1983). Anaerobic biodegradation of phenolics compounds digested. *Applied and environmental Microbiology*. 46 : 50 – 54.
- BRAILE, P. H. & CAVALCANTI, J. E. W. A. (1979). *Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais*. CESTESB.
- BUCHHOLZ, K. D. & PAWLISZYN, J. (1983). Determinação of phenols by solid-phase microextração and gas chromatographic analysis. *Environmental Science Technology*. 27 : 2844 – 2848.
- CABRAL, A. K. (1995). *Caracterização hidrodinâmica de um reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF)*. *Dissertação de Mestrado, SHS – EESC – USP. São Carlos*.

- COSTA, S. R. A. (1994). *Remoção de fenol em reator anaeróbio de leito fluidificado de carvão ativado*. Tese de Doutorado. SHS – EESC – USP. São Carlos.
- DAMIANOVIC, M. H. R. Z. (1997). *Degradação de pentaclorofenol (PCP) em reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF)*. Tese de Doutorado. SHS – EESC – USP. São Carlos.
- DILLALO, R & ALBERTSON, O. E. (1961). Volatile acids by direct titration. *Journal of Water Pollution Control Federation*. Vol. 33, n. 4, p. 354 – 365.
- DWYER, D. F. ; KRUMME, M. L. ; BOYD, S. A. & TIEDJE, J. M. (1986). Kinetics of phenol biodegradation by an immobilized methanogenic consortium. *Applied Environmental Microbiology*. 52 : 345 – 351.
- FANG, H. H. P. ; LIU, Y. & CHEN, T. (1997). Effect of sulfate on anaerobic degradation of benzoate in UASB reactors. *Journal of Environmental Engineering*. 123 : 320 – 328.
- FANG, H. P. ; LIU, Y. & CHAN, O. CH. (1997). Toxicity of phenol to towards anaerobic biogranules. *Water Research*. 31 : 2229 – 2242.
- FANG, H. H. P. ; CHEN, T. ; LI, Y. Y. & CHUI, H. K. (1996). Degradation of phenol in wastewater in an upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Water Research*. 30 : 1353 – 1360.
- FEDORAK, P. M. & HRUDEY, S. E. (1986). Nutrient requirements for the methanogenic degradation of phenol and *p*-cresol in anaerobic draw and feed cultures. *Water Research*. 20 : 929 – 933.
- GALLERT, C. & WINTER, J. (1994). Anaerobic degradation of 4 – hydroxybenzoate: reductive dehydroxylation of 4- hydroxybenzoyl – CoA and

ATP formation during 4 – hydroxybenzoate decarboxylation by the phenol – metabolizing bacteria of a stable, strictly anaerobic consortium. *Applied Microbiology Biotechnology*. 42 : 408 – 414.

GALLERT, C. & WINTER, J. (1993). Uptake of phenol by the phenol-metabolizing bacteria of a stable, strictly anaerobic consortium. *Applied Microbiology Biotechnology*. 39 : 627 – 631.

GALLERT, C. & WINTER, J. (1992). Comparison of 4 – hydroxybenzoate decarboxylase and phenol carboxilase activities in cell-free extracts of a defined, 4 – hydroxybenzoate and phenol-degrading anaerobic consortium. *Applied Microbiology Biotechnology*. 37 : 119 – 124.

GALLERT, C. ; KNOLL, G. & WINTER, J. (1991). Anaerobic carboxilation of phenol to benzoate: use of deuterated phenols revealed carboxilation exclusively in the C4 – position. *Applied Microbiology Biotechnology*. 36 : 124 – 129.

GARCIA G., J. ; BONILLA V., J. L. ; JIMENEZ P., P. R. & RAMOS G., E., (1997). Biodegradation of phenol compounds in vinasse using *Aspergillus Terrus* and *Geotrichum Candidum*. *Water Research*. 31 : 2005 – 2011.

GODBOLE, A. & CHAKRABARTI, T. (1991). Biodegradation in upflow anoxic fixed film-fixed bed reactors of resorcinol, catechol and phenol in mono and binary substrates. *Water Research*. Vol. 25, n. 9, p. 1113 – 1120.

—▷ HANAOKI, K.; HIRUNMASUWAM, S. & MATSUO, T. (1994). Protection of methanogenic bacteria from low pH and toxic materials by immobilization using polyvinyl alcohol. *Water Research*. 28 : 877 – 885.

HATRÍK, S. & TEKEL', J. (1996). Extraction methodology and chromatography for the determination of residual pesticides in water. *Journal of chromatographic*. 733 : 217 – 233.

- HENDRIKSEN, H. V. ; LARSEN, S. & AHRING, B. K. (1991). Anaerobic degradation of PCP and phenol in fixed-film reactors: the influence of an additional substrate. *Water Science Technology*. Vol. 24, n. 3/4, p. 431 – 436.
- HOLUM, J. R. (1994). *Fundamentals of general organic and biological chemistry*. Jhon Willey & Sons, inc.
- JIH, C. G. & HUANG, J.S. (1994). Effect of biofilm thickness distribution on substrate – inhibited kinetics. *Water Research*. 4 : 967 –973.
- KETTUNEN, R. H.; PULKKINEN, E. M. & RINTALA, J. A. (1996). Biological treatment at low temperatures of sulfur-rich phenols containing oil shale ash leachate. *Water Research*. 30 : 1395 – 1402.
- KINDZIERSKY, W. B.; FEDORAK, P. M.; GRAY, M. R. & HRUDEY, S. E. (1995). Activated carbon and synthetic resins as support material for methanogenic phenol–degrading consortia-comparison of phenol – degrading activities. *Water Environment Research*. 67 : 108 – 117.
- KINDZIERSKY, W. B.; FEDORAK, P. M. ; GRAY, M. R. & HRUDEY, S. E. (1992). Activated carbon and synthetic resins as support material for methanogenic phenol-degrading consortia-comparison of surface characteristics and initial colonization. *Water Environmental Research*. 64 : 766 –775.
- KNOLL, G. & WINTER, J. (1989). Degradation of phenol via carboxylation to benzoate by a defined, obligate syntrophic consortium of anaerobic bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 30 : 318 – 324.
- KNOLL, G. & WINTER, J. (1987). Anaerobic degradation of phenol in sewage Sludge – Benzoate formation from phenol and CO<sub>2</sub> in the presence of hydrogen. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 25 : 384 – 391.

- KUPFERLE, M. J. ; CHEN, T.; GALLARDO, V. J. ; LINDERBERG, D. E. ; BISHOP, P. L. ; SAFFERMAN, S. I. & BISHOP, D. F. (1995). Anaerobic pretreatment of hazardous waste leachates in publicly owned treatment works. *Water Environmental Research*. 67 : 910 – 920.
- KURODA, M.; YUZAWA, M.; SAKAKIBARA, Y. & OKAMURA, M. (1988). Methanogenic bacteria adhered to solid supports. *Water Research*. 22 : 653 – 656.
- KUMARAN, P. & PARUCHURI, L. (1997). Kinetics of phenol biotransformation. *Water Research*. 31 : 11 – 22.
- LAMPARSKI, L. L. & NESTRICK, T. J. (1978). Determination of trace phenols in water by gas chromatographic analysis of heptafluorobutyryl derivatives. *Journal of Chromatography*. 156 : 143 – 151.
- LATKAR, M. & CHAKRABARTI, T. (1994). Resorcinol, catechol and hydroquinone biodegradation in mono and binary substrate matrices in upflow anaerobic fixed – film fixed – bed reactors. *Water Research*. 28 : 599 – 607.
- LÉPINE, F.; BISAILLON, J. G.; MILOT, S.; KHALID, T. H.; BEAUDET, R. & VILLEMUR, R. (1996). Transformation of phenol into phenylalanine by a methanogenic consortium. *Applied and Environmental Microbiology*. 62 : 809 – 814.
- LÉTOURNEAU, L.; BISAILLON, F.; LÉPINE, F. & BEAUDET, R. (1995). Spore-forming bacteria that carboxylate phenol to benzoic acid under anaerobic conditions. *Canadian Journal Microbiology*. 41 : 266 – 272.
- LI, Y. Y. ; FANG, H. H. ; CHEN, T. & CHUI, H. K. (1995). UASB treatment of wastewater containing concentrated benzoate. *Journal of Environmental Engineering*. 121 : 748 – 751.

LIN, C. Y. ; SATO, K.; NOIKE, T. & MATSUMOTO, J. (1986). Methanogenic digestion using mixed substrate of acetic, propionic and butyric acids. *Water Research*. 20 : 285 – 394.

LONDRY, K. L. & FEDORAK, P. M. (1992). Benzoic acid intermediates in the anaerobic biodegradation of phenols. *Canadian Journal Microbiology*. 38 : 1 – 11.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M. & PARKER, J. (1997). *Brock Biology of Microorganisms*. Prentice hall – upper saddle river, 18<sup>th</sup> edition, pp 986.

METCALFY & EDDY (1991). *Wastewater Engineering : Treatment, Disposal, Reuse*. McGraw Hill.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. (1990). *Normas e padrão de potabilidade das águas destinadas ao consumo humano*. PORTARIA 36/GM. Brasília.

NAMKOONG, W.; LOEHR, R. C.; MALINA, Jr., J. F. (1989). Effects of mixture and acclimation on removal of phenolic compounds in soil. *Journal Water Pollution Control Federation*. 61, 242.

NEUFELD, R. D. ; VALIKNAC, T. (1979). Inhibition of phenol biodegradation by thiocyanate. *Journal Water pollution Control Federation*. 51, 2283.

O'CONNOR, O. A. & YOUNG, L. Y. (1996). Effects of six different functional groups and their position on the bacterial metabolism of monosubstituted phenols under anaerobic conditions. *Environmental Science & Technology*. 30 : 1419 – 1428.

OZTURK, M. (1991). Conversion of acetate, propionate and butyrate to methane under thermophilic conditions in batch reactors. *Water Research*. 25 : 1509 – 1513.

- PERRY, R. H. & CHILTON, C. C. (1985). *Chemical Engineers Handbook*, 50<sup>th</sup> editora McGraw-Hill, New York.
- RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C. & CONVERSE, J. C. (1986). Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. *Journal WPCF*. Vol. 58, n. 5, p. 406 – 411.
- SATSANGEE, R. & GHOSH, P. (1990). Anaerobic degradation of phenol using an acclimated mixed culture. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 34 : 127 – 130.
- SHARAK GENTHNER, B. R.; TOWNSEND, G. T. & CHPMAN, P. J. (1991). *Para*-Hydroxybenzoate as an intermediate in the anaerobic transformation of phenol to benzoate. *FEMS Microbiology Letters*. 78 : 265 – 270.
- SHELDON, J. B. D. ; KENNEDY, K. J. ; BRADY, A. J. (1995). Treatment of dilute phenol PCP wastewaters using the upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Water Research*. 29 : 645 – 651.
- SILVA, E. L. (1995). *Tratamento aeróbio de fenol em reator de leito fluidificado trifásico*. Tese de Doutorado. SHS – EESC – USP. São Carlos.
- SOUZA, M. E. (1982). Fatores que influenciam a digestão anaeróbia. *V Simpósio Nacional de Fermentação*. Viçosa, MG, p – 30. 26 a 29 de julho.
- SPEECE, R. E. (1996). *Anaerobic biotechnology for industrial wastewater*. Published by Archae Press.
- THE MERCK INDEX, (1996). *An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals*. Published by Merck Research Laboratories. Twelfth edition.

VAZOLLER, R. F. (1995). *Avaliação do ecossistema microbiano de um biodigestor anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com vinhaça sob condições termofílicas*. Tese de Doutorado. SHS – EESC – USP. São Carlos.

VELA, F. J.; GIANOTTI, E. P.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. (1999). Estimation of substrate effective diffusivities in anaerobic bioparticules. *Environmental Technology*. 20 : 1 – 8.

VERRIER, D. et al., (1987). Initial adhesion of methanogenic bacteria to polymers. *Biotechnology Letters*. 9 : 735 - 742.

VIEIRA, L. G. T. (1996). *Estimativa de parâmetros cinéticos intrínsecos de utilização de substrato por lodo anaeróbio imobilizado*. Dissertação (Mestrado). SHS – EESC – USP. São Carlos.

YOUNG, L. Y. & RIVERA, M. D. (1985). Methanogenic degradation of four phenolic compounds. *Water Research*. Vol 19, n. 10, p. 1325 – 1332.

WANG, Y. T. ; SUIDAN, M. T. ; RITTMAN, B. E. (1986). Anaerobic treatment of phenol by an expanded-bed reactor. *Journal WPCF*. Vol. 58, n. 3, p. 227 – 233.

WEN, T. C. ; CHENG, S. S. & LAY, J. J. (1994). A kinetic model of a recirculated upflow anaerobic sludge blanket treating phenolic wastewater. *Water Environmental Research*. 66 : 794 – 799.

WHITMAN, A. J. B. (1989). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Section 25 archaeobacteria. order ii. Methanococcales*. pp 2171 – 2253.

XING, B. ; MCGILL, W. B. ; DUDAS, M. J. ; MAHAN, Y. & HEPLER, L. (1994). Sorption of phenol by selected biopolymers : Isotherms, Energetics and polarity. *Environmental Science Technology*. 28 : 466 473.

ZAIAT, M. ; HERMES PASIG, F. ; FORESTI, E. (2000). A mathematical model and criteria for designing horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactors for wastewater treatment. *Bioresource Technology*. 71 : 235 – 243.

ZAIAT, M. & FORESTI, E. (1997). Method for estimating the kinetics of substrate degradation in horizontal-flow anaerobic immobilized sludge reactors. *Biotechnology Techniques*. 11: 315 - 318.

ZAIAT, M. ; VIEIRA, L. G. T. ; FORESTI, E. (1997). Spatial and temporal variations of monitoring performance parameters in horizontal-flow anaerobic immobilized sludge (HAIS) reactor treating synthetic substrate. *Water Research*. 31 : 1760 - 1766.

ZAIAT, M. (1996). *Desenvolvimento de reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) para tratamento de águas residuárias*. Tese de doutorado. SHS – EESC – USP. São Carlos.

ZAIAT, M. ; CABRAL, A. K. A. ; FORESTI, E. (1994). Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) para tratamento de águas residuárias: concepção e avaliação preliminar de desempenho. *Revista Brasileira de Engenharia-Caderno de Engenharia Química*. Vol. 11, n. 2, p. 33 – 42.

ZEHNDER, A. J. B. (1989). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. *Section 25 archaeobacteria, genus iii. Methanotrix*. pp. 2171 – 2253.