

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

AVALIAÇÃO DE PARTÍCULAS POLIMÉRICAS COMO MATERIAL
SUORTE EM REATOR ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIZADO NO
TRATAMENTO DE FENOL

Leandro Takano Sader

São Carlos

2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DE PARTÍCULAS POLIMÉRICAS COMO MATERIAL
SUPORTE EM REATOR ANAERÓBIO DE LEITO FLUIDIZADO NO
TRATAMENTO DE FENOL**

Leandro Takano Sader

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Silva

São Carlos

2005

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S125ap

Sader, Leandro Takano.

Avaliação de partículas poliméricas como material suporte em reator anaeróbio de leito fluidizado no tratamento de fenol / Leandro Takano Sader. -- São Carlos : UFSCar, 2005.

119 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2005.

1. Biotecnologia. 2. Processo anaeróbio. 3. Leito fluidizado. 4. Fenol. 5. Biofilme. I. Título.

CDD: 660.6 (20^a)

BANCA EXAMINADORA

Dissertação de Mestrado apresentada no dia 24 de março de 2005, perante a seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. José Alberto Domingues Rodrigues – EEM/IMT

Prof. Dr. Wu Hong Kowng – DEQ/UFSCar

Prof. Dr. Edson Luiz Silva – DEQ/UFSCar
(Orientador)

Aos meus queridos pais Marco
Antônio e Elizabeth, as minhas irmãs
Letícia e Lívia e a minha tia Ednéia.

“É fundamental que o estudante adquira uma compreensão e uma percepção nítida dos valores. Tem de aprender a ter um sentido bem definido do belo e do moralmente bom”.

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar meu caminho e nunca deixar faltar coragem para poder vencer na vida.

Ao Prof. Dr. Edson Luiz Silva, primeiramente pela grande confiança concedida, pela eficiente orientação dedicada e pela amizade formada durante esses anos.

A Prof. Dra Maria Bernadete A. Varesche por sua ajuda com a microbiologia estudada.

Ao técnico Oscar da Silva, famoso “mão santa”, pela construção dos reatores e pela extrema disposição na ajuda e solução dos problemas decorrentes neste trabalho.

Ao Prof. Titular Eugênio Foresti pela oportunidade em participar do Projeto Temático.

Ao Prof. Dr. Marcelo Zaiat pelas “dicas” durante o Projeto Temático.

A Dra. Giselli Patrícia Sancinetti, que me ensinou as técnicas da maioria das análises laboratoriais aplicadas neste trabalho.

A amiga, confidente e companheira de laboratório Ecol^a Elisabeth dos Santos Gaspar Damiano, por sua disposição de cuidar dos meus reatores em momentos muito valiosos, pela agradável companhia e pela experiência de vida que passou a todos seus colegas de laboratório.

A Eng^a Fabiana Rodrigues Martinelli, amiga e companheira de laboratório desde meu primeiro dia no mestrado até o último, por contribuir neste trabalho através de suas pesquisas realizadas anteriormente.

Aos demais colegas de laboratório, Luciana, Mariana, Camilla e Hélio, pelos momentos de descontração e pelas companhias.

Ao Sr. Nelson Gallo do Instituto de Física da Universidade de São Carlos pelas análises de microscopia eletrônica de varredura.

Um especial agradecimento ao meu amigo e companheiro Luciano (Birigüi), pessoa com quem convivi durante maior parte do meu mestrado e que esteve sempre do meu lado nos momentos de alegria, de lazer e de estresses.

Aos amigos que conheci em São Carlos: Dalton, Xuan, Álvaro, Giacomo e André, pelas agradáveis companhias nos momentos de lazer e por serem hoje mais do que amigos.

As queridas vizinhas Paulinha e Edilene que estiverem sempre próximas e dispostas a ajudar no nosso cotidiano.

Aos amigos de Penápolis que compreenderam a minha ausência em certas ocasiões, mas que sempre estiveram no meu coração, em especial aos meus “brothers” Danilo, Klaus e Fernanda.

A Isabella, pessoa muito especial e querida que fez parte da minha vida durante o mestrado, com quem aprendi muito dos valores da vida e que hoje, juntamente com sua família tem um lugarzinho especial no meu coração.

A CAPES e FAPESP pelo apoio financeiro e pelo investimento no Laboratório de Controle Ambiental II do Departamento de Engenharia Química da UFSCar.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	iv
Lista de Tabelas	ix
Simbologia	xii
Abreviaturas	xii
Resumo	xiv
Abstract	xv
CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Generalidades	1
1.2 Objetivos	3
CAPÍTULO 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Aspectos Referentes aos Compostos Aromáticos e ao Metabolismo Anaeróbio	5
2.1.1 Fenol	5
2.1.2 Estratégias do Metabolismo Aeróbio e Anaeróbio de Aromáticos	6
2.1.3 Digestão Anaeróbia	7
2.1.4. Aceptores Inorgânicos de Elétrons em Digestores Anaeróbios	10
2.1.5. Metabolismo anaeróbio do fenol	13
2.2 Aspectos referentes ao reator anaeróbio de leito fluidizado	18
2.2.1 O reator anaeróbio de leito fluidizado	18
2.2.2 Biofilme	23
2.2.3 Material Suporte	31
2.2.4 Formação de Biofilme na Partida e Operação de Reatores de Leito Fluidizado	37

CAPÍTULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS	42
3.1 Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado	42
3.2 Água Residuária Sintética	45
3.3 Inóculo	46
3.4 Suporte Empregado nos Reatores Anaeróbios de Leito Fluidizado	46
3.5 Adaptação do Inóculo ao Fenol	47
3.6 Ativação das Partículas Utilizadas como Meio Suporte	48
3.7 Ensaios Preliminares em Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado.	49
3.8 Partida dos Reatores Anaeróbios de Leito Fluidizado	50
3.9 Métodos Analíticos	52
3.9.1 Caracterização Microbiológica do Biofilme Anaeróbio	53
3.9.2 Quantificação da Biomassa Aderida	54
3.9.3 Quantificação de Polímeros Extracelulares Excretados	56
CAPÍTULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	58
4.1 Adaptação do Inóculo ao Fenol	58
4.1.1 Morfologias Observadas nos Inóculos	61
4.2 Pré-Monitoramento de um Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado	62
4.3 Inoculação dos Reatores Anaeróbios de Leito Fluidizado	66
4.4 Degradação Anaeróbia de Fenol em Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado	67
4.4.1 Remoção de fenol para reator preenchido com partículas de poliestireno	67
4.4.2 Remoção de fenol para reator preenchido com partículas de PET	72
4.4.3 Remoção de fenol para reator preenchido com partículas de PVC	75
4.5 Análises da Formação do Biofilme	81
4.5.1 Quantificação da biomassa aderida	82

4.5.2	Quantificação dos Polímeros Extracelulares em Relação à Biomassa Aderida.	84
4.5.3	Quantificação dos Polímeros Extracelulares em Relação às Partículas Poliméricas	85
4.5.4	Caracterização Microbiológica do Biofilme Anaeróbio	88
4.5.4.1	Amostras de partículas do 10 ^o dia de operação	89
4.5.4.2	Amostras de partículas do 32 ^o dia operação	92
4.5.4.3	Amostras de partículas do 55 ^o dia operação	95
4.5	Demais Parâmetros Monitorados	98
	CAPÍTULO 5	107
5.1	Conclusões	107
5.2	Sugestões	111
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	112
	ANEXO A	120

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1	Rota redutiva da degradação do fenol	13
Figura 2.2	Rota do ácido benzóico ou <i>p</i> -carboxilação do fenol	13
Figura 2.3	Seqüência de reação de conversão de fenol a benzoil-CoA/benzoato por consórcio sintrófico degradador de fenol.	17
Figura 2.4	Interpretação esquemática da acumulação do biofilme sobre a superfície do suporte de rugosidades diferentes	34
Figura 3.1	Reatores anaeróbios de leito fluidizado	43
Figura 3.2	Difusor de fluxo da alimentação	44
Figura 3.3	Topo do reator	44
Figura 4.1	Curvas de degradação do fenol na adaptação do inóculo	60
Figura 4.2	Morfologias observadas na adaptação do inóculo: bacilos, víbrios, bacilos fluorescentes, e morfologias semelhantes a <i>Methanosaeta sp.</i> e <i>Methanosarcina s.</i>	62
Figura 4.3	Monitoramento da vazão de alimentação da água residuária no reator anaeróbio de leito fluidizado	63
Figura 4.4	Monitoramento da concentração de fenol na alimentação e no efluente do reator anaeróbio de leito fluidizado	64
Figura 4.5	Porcentagem de fenol removido no reator anaeróbio de leito fluidizado	64
Figura 4.6	Consumo de fenol durante a inoculação dos reatores	66
Figura 4.7	Varição da vazão efluente ao longo do tempo para o reator preenchido com poliestireno	68

Figura 4.8	Variação temporal da concentração de fenol para o reator preenchido com poliestireno	69
Figura 4.9	Variação temporal da eficiência de remoção de fenol ao longo do tempo para o reator preenchido com poliestireno	70
Figura 4.10	Variação da vazão efluente ao longo do tempo para o reator preenchido com PET	72
Figura 4.11	Variação temporal da concentração de fenol para o reator preenchido com PET	73
Figura 4.12	Variação temporal da eficiência de remoção de fenol ao longo do tempo para o reator preenchido com PET	74
Figura 4.13	Variação da vazão efluente ao longo do tempo para o reator preenchido com PVC	76
Figura 4.14	Variação temporal da concentração de fenol para o reator preenchido com PVC	77
Figura 4.15	Variação temporal da eficiência de remoção de fenol ao longo do tempo para o reator preenchido com PVC	77
Figura 4.16	Partículas de poliestireno depois e antes da operação do reator	80
Figura 4.17	Partículas de PET depois e antes da operação do reator	80
Figura 4.18	Partículas de PET depois e antes da operação do reator	80
Figura 4.19	Crescimento da biomassa aderida ao longo do tempo nas partículas poliméricas	83
Figura 4.20	Massa de polímeros na forma de carboidratos por grama de SVT, ao longo do tempo, para as diferentes partículas	85

	estudadas	
Figura 4.21	Massa de polímeros na forma de proteínas por grama de SVT, ao longo do tempo, para as diferentes partículas estudadas	85
Figura 4.22	Massa de polímeros na forma de carboidratos por grama de partícula, ao longo do tempo, para as diferentes suportes poliméricos estudados	86
Figura 4.23	Massa de polímeros na forma de proteínas por grama de partícula, ao longo do tempo, para as diferentes suportes poliméricos estudados	86
Figura 4.24	MEV realizada nas partículas de PVC no 10 ^o dia de operação	89
Figura 4.25	MEV realizada nas partículas de PET no 10 ^o dia de operação	90
Figura 4.26	MEV realizada nas partículas de poliestireno no 10 ^o dia de operação	91
Figura 4.27	MEV realizada nas partículas de PVC no 32 ^o dia de operação	92
Figura 4.28	MEV realizada nas partículas de PET no 32 ^o dia de operação	93
Figura 4.29	MEV realizada nas partículas de poliestireno no 32 ^o dia de operação.	94
Figura 4.30	MEV realizada nas partículas de PVC no 55 ^o dia de operação mg/L.	95

Figura 4.31	MEV realizada nas partículas de PET no 55º dia de operação	96
Figura 4.32	MEV realizada nas partículas de poliestireno no 55º dia de operação	97
Figura 4.33	Variação da DQO em função do tempo para o reator preenchido com poliestireno	99
Figura 4.34	Variação temporal da eficiência de redução de DQO para o reator preenchido com poliestireno	99
Figura 4.35	Variação da DQO em função do tempo para o reator preenchido com PET	100
Figura 4.36	Variação temporal da eficiência de redução de DQO para o reator preenchido com PET	100
Figura 4.37	Variação da DQO em função do tempo para o reator preenchido com PVC	101
Figura 4.38	Variação temporal da eficiência de redução de DQO para o reator preenchido com PVC	101
Figura 4.39	Variação do pH com o tempo para o reator preenchido com poliestireno	102
Figura 4.40	Variação do pH com o tempo para o reator preenchido com PET	103
Figura 4.41	Variação do pH com o tempo para o reator preenchido com PVC	103
Figura 4.42	Variação da alcalinidade a bicarbonato com o tempo para o reator preenchido com poliestireno	105

Figura 4.43	Varição da alcalinidade a bicarbonato com o tempo para o reator preenchido com PET	105
Figura 4.44	Varição da alcalinidade a bicarbonato com o tempo para o reator preenchido com PVC	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1	Definição dos microrganismos de acordo com suas temperaturas cardiais de crescimento	9
Tabela 2.2	Mecanismos de formação do ácido benzóico com diferentes aceptores terminais de elétrons	13
Tabela 2.3	Referências industriais para o reator anaeróbico de leito fluidizado	21
Tabela 2.4	Referências industriais para o reator anaeróbico de leito fluidizado.	47
Tabela 3.1	Composição da água residuária sintética a base de fenol de acordo com Del Nery (1987) para DQO de 1000 mg/L.	45
Tabela 3.2	Dimensão, densidade e velocidade de mínima fluidização para as partículas de poliestieno, PET e PVC	47
Tabela 3.3	Parâmetros usados nos reatores de leito fluidizado	51
Tabela 4.1	Resultados obtidos no primeiro mês de adaptação do inóculo	59
Tabela 4.2	Resultados médios obtidos, para cada faixa de concentração de fenol, aplicada no reator preenchido com partículas de poliestireno	71
Tabela 4.3	Resultados médios obtidos, para cada faixa de concentração de fenol, aplicada no reator preenchido com partículas de PET	75
Tabela 4.4	Resultados médios obtidos, para cada faixa de concentração	78

	de fenol, aplicada no reator preenchido com partículas de PVC	
Tabela 4.5	Dados referentes ao crescimento da biomassa e à excreção de polímeros para o reator preenchido com partículas de PVC	81
Tabela 4.6	Dados referentes ao crescimento da biomassa e à excreção de polímeros para o reator preenchido com partículas de PET	82
Tabela 4.7	Dados referentes ao crescimento da biomassa e à excreção de polímeros para o reator preenchido com partículas de poliestireno	82
Tabela 4.8	Porcentagem média de DQO removida para cada concentração de fenol aplicada	98
Tabela 4.9	Valores médios obtidos para alcalinidade a bicarbonato nos reatores	104
Tabela A.1	Valores de vazão de alimentação durante a operação contínua dos reatores anaeróbios de leito fluidizado preenchidos com partículas de poliestireno, PET e PVC.	121
Tabela A.2	Valores da concentração de fenol e eficiência de remoção durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de poliestireno.	123
Tabela A.3	Valores da concentração de fenol e eficiência de remoção durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de PET.	125

Tabela A.4	Valores da concentração de fenol e eficiência de remoção durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de PVC.	127
Tabela A.5	Valores de DQO e eficiência de redução durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de poliestireno.	129
Tabela A.6	Valores de DQO e eficiência de redução durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de PET.	130
Tabela A.7	Valores de DQO e eficiência de redução durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de PVC.	131
Tabela A.8	Valores de pH durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de poliestireno.	132
Tabela A.9	Valores de pH durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de PET.	133
Tabela A.10	Valores de pH durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de PVC.	134
Tabela A.11	Valores de concentração de alcalinidade a bicarbonato durante a operação contínua dos reatores preenchidos com partículas de poliestireno, PET e PVC.	135

SIMBOLOGIA

Φ	Dimensão da partícula	(L)
ρ	Densidade da partícula	(ML ⁻³)
C_f	Concentração de fenol no inóculo	(ML ⁻³)
DQO	Demanda química de oxigênio	(ML ⁻³)
H_o	Altura correspondente a massa de partículas em leito fixo	(L)
H_f	Altura correspondente a massa de partículas em leito fluidizado	(L)
M	Massa de partículas usada nos reatores	(M)
Q_r	Vazão de recirculação	(L ³ T ⁻¹)
SST	Sólidos suspensos totais	(ML ⁻³)
SSV	Sólidos em suspensão voláteis	(ML ⁻³)
SVT	Sólidos voláteis totais	(ML ⁻³)
V	Volume do reator	(L ³)
V_{mf}	Velocidade de mínima fluidização	(LT ⁻¹)

ABREVIATURAS

MEV	Microscopia eletrônica de varredura
PCP	Pentaclorofenol
PET	Polietileno tereftalato
PVC	Policloreto de vinila
RALF	Reator anaeróbio de leito fluidizado
RAHLF	Reator anaeróbio horizontal de leito fluidizado

TDH	Tempo de detenção hidráulica
TDH _r	Tempo de detenção hidráulico relativo a altura do leito
UASB	Reator anaeróbio de manta de lodo
4-AAP	4-amino-antipirina

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estudar da formação de biofilmes em partículas poliméricas usadas como meio suporte em reatores anaeróbios de leito fluidizado. Foram testados 3 suportes poliméricos: poliestireno, PET e PVC, os quais sofreram tratamento ácido adequado, de modo a proporcionar-lhes características superficiais como rugosidade, porosidade e carga elétrica favorável, com a finalidade de favorecer a adesão microbiana. Os reatores foram inoculados com lodo proveniente de reator UASB que tratava resíduo de suinocultura, adaptado à degradação do fenol por 150 dias. O volume dos reatores era de 770cm^3 , e operaram com velocidade ascensional igual a 1,3 vezes da vazão de mínima fluidização. A concentração de fenol variou de 100 a 400mg/L na alimentação de cada sistema, apresentando resultados de remoção de fenol de 97%, 98% e 97,5% e remoção de DQO de 84%, 88,5% e 87%, respectivamente para os reatores com poliestireno, PET e PVC, os quais operaram com tempo de detenção hidráulico relativo a altura do leito, correspondente ao volume reacional dos reatores (TDH_r) de 22 h, 10,6 h e 20,4h, respectivamente. A quantificação de polímeros extracelulares mostrou melhores resultados para as partículas de PVC que apresentou $0,2\text{ mgCarboidrato/gPartícula}$ e $0,06\text{ mgProteína/gPartícula}$. No entanto, deformações nessas partículas prejudicaram o desempenho do reator, definindo como melhor suporte as partículas de PET, sendo que neste reator a porcentagem de remoção de fenol foi maior para um menor TDH_r .

Palavras chaves: Processo anaeróbio, leito fluidizado, fenol e biofilme.

ABSTRACT

This work had as objective studies of the biofilms formation in polymeric particles used as material supports in anaerobic fluidized-bed reactors. Three polymeric supports were tested: polystyrene, PET and PVC, which suffered appropriate acid treatment, in way to provide them superficial characteristics as rugosity, porosity and favorable electric charge, with the purpose of favoring the microbial adhesion. The reactors were inoculated with sludge originating from reactor UASB that treated swine slaughterhouse residue, adapted to the degradation of the phenol by 150 days. The volume of the reactors was of 770cm³, and they operated with ascendant speed of 1,3 times of the flow rate of the minimum fluidization. The phenol concentration varied from 100 to 400mg/L in the feeding of each system, presenting results of removal of phenol of 97%, 98% and 97,5% and removal of DQO of 84%, 88,5% and 87%, respectively for the reactors with polystyrene, PET and PVC, which operated with time of detention hydraulic relative the height of the bed, corresponding to the reactional volume of the reactors (TDHr) of 22 h, 10,6 h and 20,4 h, respectively. The quantification of extracellular polymeric showed better results for the particles of PVC that it presented 0,2 mgCarbohydrate/gParticle and 0,06 mgProteyn/gParticle. However, deformations in those particles harming the acting of the reactor, defining as better support the particles of PET, and in this reactor the percentage of phenol removal was larger for a smaller TDHr.

Key words: Process anaeróbio, fluidized bed, phenol and biofilm.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1 Generalidades

As constantes transformações do mundo moderno trazem uma série de benefícios à população, no entanto, existem outros fatores que indiretamente estão ligados a essas transformações sendo pouco abordados, como é o caso da geração de resíduos.

Seja qual for o tipo de resíduo gerado, a legislação impõe o tratamento adequado antes de voltarem para o meio ambiente, implicando em multas no não cumprimento das leis.

Fenol, composto orgânico tóxico, de odor pungente, nauseante, é encontrado em resíduos líquidos, sendo que mesmo em baixas concentrações, sua presença em meio aquoso pode ser letal a vida aquática (de 5 a 25 mg/L), além de causar sabores indesejáveis na água potável (0,002 mg/L). A legislação apresenta para este caso, alguns limites de concentração de fenol nas águas. Águas de consumo urbano e recreação, limite de 0,001 mg/L; lançamentos em corpos receptores, limite de 0,5 mg/L; esgoto, limite de 5,0 mg/L (RESOLUÇÃO CONAMA Nº 20, 1986).

O fenol é um poluente orgânico frequentemente encontrado em águas residuárias de indústrias, é usado como 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 (utilizados em várias

aplicações). Além disso, fenol é descartado em efluentes de refinarias de petróleo, indústrias petroquímicas, indústrias químicas orgânicas, refinarias de carvão, indústrias farmacêuticas, indústrias de curtumes e indústrias de celulose e papel.

Dentre as alternativas técnicas disponíveis para o tratamento de águas residuárias contendo compostos orgânicos, o tratamento biológico oferece melhores condições por apresentarem custos relativamente baixos quando comparados ao tratamento físico-químico.

O tratamento biológico pode ser aeróbio ou anaeróbio. No processo anaeróbio as vantagens estão na economia de energia, visto que não requer oxigênio, produzem baixa biomassa residual e geração de metano como resíduo, embora apresente desvantagens em relação à qualidade do efluente, taxa de tratamento e inibição biológica. A desvantagem da baixa taxa de degradação pode ser melhorada pelo desenvolvimento de novas configurações de reatores que empreguem o uso de biomassa fixa em meio suporte (HANAKI et al., 1997; LETTINGA et al., 1997).

Os processos de tratamento biológico com biomassa fixa a suportes se apresentam como alternativas bastante viáveis, uma vez que nestes processos podem-se manter altas concentrações de microrganismos nos reatores, possibilitando, desta forma, que o processo possa operar com elevadas cargas, reduzindo assim as dimensões das instalações de tratamento (SILVA, 1995).

Os reatores de leito fluidizado têm uma importância fundamental neste sentido, pois, dentre diversos processos com biomassa imobilizada, apresentam vantagens suplementares, como a de evitar a colmatação do leito, tão comum nos processos com leito fixo, além de promover uma rápida difusão do substrato pela

biomassa. Um problema encontrado no funcionamento desses reatores é o controle da formação e do crescimento do biofilme aderido à superfície das partículas suporte. O crescimento do biofilme sobre o suporte modifica as características das partículas, aumentando o seu tamanho e diminuindo sua densidade.

Tradicionalmente, nos reatores de leito fluidizado eram empregados como suporte materiais como argila, areia, carvão ativado, etc., que apresentam altas densidades, em decorrência, a obtenção de condições adequadas de fluidização exigia o emprego de partículas de pequeno diâmetro. O crescimento de biofilme, combinado com as elevadas velocidades de fluidização exigidas, provocava arraste de biopartículas do interior do reator. Assim, foi proposta a utilização de partículas menos densas de materiais poliméricos, passíveis de tratamento químico prévio para otimização de suas propriedades de superfície. Os materiais poliméricos apresentam, como principais vantagens: compatibilidade com o crescimento do biofilme, como por exemplo, grande superfície para colonização e manutenção da densidade da biopartícula (TAVARES, 1992).

1.2 Objetivos

Este trabalho teve como objetivo geral estudar a formação do biofilme em diferentes suportes poliméricos aplicados na degradação do fenol em reatores anaeróbios de leito fluidizado.

Esta pesquisa foi desenvolvida nas seguintes etapas:

- a) Adaptação do inóculo a ser utilizado, o qual tratava resíduo de suinocultura, à degradação do fenol;
- b) Análise do desempenho dos reatores anaeróbios de leito fluidizado, preenchidos com partícula de poliestireno, PET e PVC, na degradação do fenol;
- c) Análises da formação e desenvolvimento do biofilme nos suportes de poliestireno, PET e PVC, durante a operação dos reatores.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos Referentes aos Compostos Aromáticos e ao Metabolismo Anaeróbio

2.1.1 Fenol

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

O fenol também é conhecido com 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 essência, em estruturas complexas.

O fenol é biodegradável tanto aeróbia como anaerobiamente, mas pode ser tóxico aos microrganismos mesmo a concentrações relativamente baixas de 10 mg/L. O fenol pode ser inibidor do crescimento mesmo àquelas espécies que possuem atividade metabólica usando-o como substrato de crescimento. A degradação de fenol a metano e gás carbônico em ambiente anaeróbio ocorre através da ação dos microrganismos metabolizadores de fenol, utilizadores de hidrogênio e metanogênicos acetotróficos. A adaptação do lodo é necessária e, geralmente, leva meses. O reator usado no tratamento de água residuária fenólica exhibe alta

sensibilidade a mudanças nas condições operacionais tais como, carga e temperatura, e a recuperação é gradativa e demorada (TAY ET AL., 2001).

Apesar do fato dos fenóis estarem presentes na maioria dos solos e sedimentos, somente poucos microrganismos anaeróbios degradadores de fenol foram isolados e caracterizados. Em 1986 ocorreu o primeiro relato de bactéria obrigatoriamente anaeróbia degradadora de fenol relacionada a *Desulfobacterium phenolicum* (VAN SCHIE E YOUNG, 1998).

2.1.2 Estratégias do Metabolismo Aeróbio e Anaeróbio de Aromáticos

Compostos aromáticos são substratos quase sempre presentes para o crescimento de microrganismos. Organismos aeróbios que usam compostos aromáticos como fonte de carbono e de energia precisam, primeiramente introduzir grupos hidroxila dentro desse substrato usando oxigênio molecular como co-substrato obrigatório antes que eles possam ser utilizados. A subsequente divisão carbono-carbono aromático também requer oxigênio (FUCHS ET AL., 1989).

O principal problema a ser superado na degradação de compostos aromáticos é a estabilidade química do anel aromático. Em toda rota de degradação aeróbia o oxigênio molecular altamente reativo é usado como ferramenta para o ataque inicial no núcleo aromático e também para o passo final de desaromatização e rompimento do anel. Uma reação similar não é disponível no metabolismo anaeróbio. Por isso, a degradação anaeróbia de aromáticos necessita de um mecanismo de reação completamente diferente para a troca de diversos compostos dentro da rota de

degradação e reação de desaromatização. Ao contrário das rotas aeróbias, a reação envolvida no metabolismo anaeróbio de aromáticos são modificações altamente redutivas do substrato. Outra grande diferença é que o metabolismo anaeróbio de aromáticos está restrito para compostos de baixa massa molecular, incluindo quase todos as classes de compostos aromáticos monocíclicos (HEIDER E FUCHS, 1997).

2.1.3 Digestão Anaeróbia

A digestão anaeróbia é um dos processos mais antigos utilizados para estabilização de esgotos. Ela envolve a decomposição de matéria orgânica e oxidação da matéria inorgânica na ausência de oxigênio molecular.

A matéria orgânica removida das águas residuárias é decomposta em dois estágios por grupos diferentes de microrganismos anaeróbios. Primeiramente os compostos orgânicos são oxidados produzindo ácidos graxos, principalmente o ácido acético, o qual por sua vez é transformado em metano.

Os microrganismos produtores de ácidos crescem muito mais rapidamente que os produtores de metano, possuindo um tempo de duplicação da população de algumas horas, enquanto que o tempo requerido pelos produtores de metano é de alguns dias.

Os microrganismos produtores de metano são sensíveis às condições de meio ambiente ácidos. Sendo assim, o meio deve ser mantido num valor de pH próximo a 7. Um valor próximo de 6 indica um iminente fracasso do processo.

A digestão é um processo microbiológico inter e intracelular de estágios múltiplos. No primeiro estágio estão os microrganismos hidrolíticos que solubilizam e fermentam polissacarídeos, proteínas e lipídeos, gerando como produtos finais ácidos orgânicos, álcoois, metanol, hidrogênio molecular (H_2), dióxido de carbono (CO_2), ácido acético, entre outros. Em um segundo estágio estariam os microrganismos acetogênicos, produtores de hidrogênio, que degradam ácidos orgânicos de cadeia mais longa que o ácido acético e compostos neutros como álcoois (exceto metanol) a hidrogênio e acetato (CHERNICHARO, 1997).

No terceiro estágio estariam os microrganismos homoacetogênicos, que podem fermentar uma variedade de compostos de um ou mais carbonos a ácido acético. No quarto estágio estariam os produtores de metano, metanogênicos acetocláticos, que degradam ácido acético a metano, e os metanogênicos utilizadores de H_2 e que também podem produzir metano a partir de H_2 e CO_2 .

Metanogênese é a formação microbiológica do metano, o hidrocarboneto mais simples, pouco solúvel e essencialmente inerte sob condições anaeróbias. É realizada por um grupo de microrganismos gram-positivos e gram-negativos anaeróbios restritos, quimiolitoheterotróficos, isto é, que obtém energia da formação de metano, seja pela redução do CO_2 utilizando H_2 ou pela fermentação do acetato. Os microrganismos metanogênicos são muito exigentes quanto ao estado de anaerobiose.

A presença de microrganismos metanogênicos na degradação anaeróbia é muito importante já que é a partir deles que se chega na etapa final de degradação.

Todos os processos de crescimento de microrganismos são dependentes de reações bioquímicas e as velocidades destas reações são influenciadas pela

temperatura. A temperatura é um dos fatores ambientais que influenciam o crescimento e a sobrevivência de qualquer organismo. Os microrganismos que crescem em temperaturas elevadas apresentam características metabólicas que promovem reações celulares catalisadas por enzimas, geralmente mais rápidas e, portanto, as velocidades de crescimento destas células em seu meio são aumentadas. A uma certa temperatura, proteínas, ácidos nucléicos, enzimas e outros componentes celulares são sensíveis, podendo ser irreversivelmente desnaturados (TELH, 2001).

Todo organismo vivo possui uma temperatura mínima para o seu crescimento, abaixo da qual não se desenvolve, uma temperatura ótima, na qual o seu crescimento é mais rápido, e uma máxima, acima da qual a seu crescimento não é possível (TELH, 2001).

Baseadas nas faixas de temperatura nas quais as bactérias proliferam, elas podem ser classificadas em psicofílicas, mesofílicas e termofílicas. Na Tabela 2.1, observa-se a faixa de temperatura indicando aproximadamente a temperatura ótima, na qual ocorre um crescimento mais rápido durante um curto período de tempo (12 a 24 horas).

Tabela 2.1 – Definição dos microrganismos de acordo com suas temperaturas cardiais de crescimento.

Grupos	T mínima (oC)	T ótima (oC)	T máxima (oC)
Psicofílicos	< 0	< 15	< 20
Mesofílicos	> 5	> 15	> 20
Termofílicos	> 25	> 45	> 50

Para utilização do tratamento biológico, é necessário um reator no qual os microrganismos irão se desenvolver. Após algum tempo da adição dos microrganismos, estes sofrem um processo de seleção artificial, tornando o meio rico em microrganismos capazes de executar o consumo de matéria orgânica.

O objetivo do tratamento de efluentes através de tratamento biológico é a remoção da matéria orgânica. Este processo acelera os mecanismos de degradação que ocorrem naturalmente, através da ação de microrganismos como bactérias, protozoários e fungos.

2.1.4 Aceptores Inorgânicos de Elétrons em Digestores Anaeróbios

Na ausência de oxigênio, compostos orgânicos podem ser metabolizados por diversas comunidades microbianas usando aceptores alternativos de elétrons. Em termos de respiração microbiana e fluxo de carbono em ambientes anóxicos, os aceptores de elétrons mais importantes são nitrato, sulfato, ferro (III), manganês (IV), e carbonato, os quais resultam no processo de desnitrificação, sulfetogênese, redução do ferro, redução do manganês, e metanogênese, respectivamente (HÄGGBLUM ET AL., 2000).

Em uma comunidade microbiana, a porção da população que usa um acceptor terminal de elétron que fornece a maior quantidade de energia tem vantagem competitiva. Este grupo de microrganismos direciona o fluxo principal de elétrons tão logo exista um fornecimento adequado do acceptor de elétron requerido. Por exemplo, os microrganismos redutores de sulfato competem com os metanogênicos na presença

de sulfato. Do mesmo modo, microrganismos redutores de ferro competem com microrganismos redutores de sulfato e metanogênicos quando o íon férrico está presente (LONDRY E FEDORAK, 1992). Os microrganismos que são ativos sobre diferentes condições redox são fisiologicamente e filogeneticamente distintos. Deste modo, as atividades e interações dessas diversas populações precisam ser consideradas quando se avalia a destruição de químicos tóxicos no ambiente e quando se desenvolvem tecnologias para biorremediação (HÄGGBLUM ET AL., 2000).

Se o nitrato está presente em ambientes livres de oxigênio, este ânion serve como acceptor terminal de elétrons para muitos microrganismos anaeróbios facultativos. Na ausência de outros aceptores de elétrons, condições metanogênicas existem, onde o bicarbonato serve como acceptor de elétron.

Em altas concentrações de sulfato encontradas na água do mar (20 a 30 mM), a redução do sulfato é o processo dominante no metabolismo do carbono em sedimentos marinhos, e o sulfato pode ser o acceptor de elétrons mais importante, influenciando a dehalogenação e degradação aromática de compostos halogenados (HÄGGBLUM E YOUNG, 1995).

Estudos já indicaram que o Fe^{3+} pode servir como acceptor de elétrons na oxidação microbiana de substratos orgânicos, bem como alguns compostos aromáticos monoclorados ou não. A abundância íon férrico em alguns sedimentos pode promover sua redução microbiana competindo pela matéria orgânica e fluxo de elétrons em processos anaeróbios, incluindo a redução de sulfato e metanogênese (KAZUMI ET AL., 1995).

A degradação de fenóis clorados e ácidos benzóicos por um consórcio metanogênico é iniciada pela decloração redutiva, a qual é seguida pela quebra do anel aromático e, por fim, mineralização a metano e CO₂ (HÄGGBLÖM ET AL., 1993).

Além do carbonato (metanogênese), uma variedade de aceptores alternativos de elétrons pode ser usada para a respiração pelos microrganismos, incluindo nitrato, sulfato, manganês e ferro. A desnitrificação pode ser significativa em regiões com lançamento de nitrato como águas agrícolas ou descarga de esgoto. Em ambientes anaeróbios de água fresca as concentrações de sulfato tendem a serem baixas, e a redução de carbonato a metano serve como fonte predominante de elétrons para o processo microbiológico. Por outro lado, em sistemas marinhos, as concentrações de sulfato tendem a ser altas, e a redução de sulfato ou sulfetogênese serve como o maior processo aceptor de elétrons. Sulfato foi mostrado ser inibidor da decloração redutiva pelo consórcio metanogênico. Esta inibição foi atribuída à competição por equivalentes redutores pelo sulfato.

Embora o sulfato e outros oxianions geralmente inibam a dehalogenação, isto não é sempre o caso, pois esses aceptores alternativos de elétrons podem suportar a degradação anaeróbia de compostos aromáticos halogenados. Cálculos termodinâmicos indicaram que a degradação de compostos aromáticos clorados unidos à redução de sulfato foi mais favorável que a degradação associada à produção de metano (HÄGGBLÖM E YOUNG, 1995).

Londry e Fedorak (1992) apresentaram um estudo sobre os mecanismos de formação de ácido benzóico a partir do fenol e isômeros do cresol sob condições

anaeróbias com vários aceptores terminais de elétrons. Os resultados estão mostrados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 - Mecanismos de formação do ácido benzóico com diferentes aceptores terminais de elétrons.

Fonte: LONDRY E FEDORAK (1992)

Aceptor terminal de elétron	Fenol	<i>p</i> -cresol	<i>m</i> -cresol	<i>o</i> -cresol
NO ₃ ⁻	<i>para</i> -carboxilação	Oxidação grupo metil	NR	NR
SO ₄ ²⁻	NR	Oxidação grupo metil	<i>para</i> -carboxilação	Oxidação grupo metil
CO ₂	<i>para</i> -carboxilação	Oxidação grupo metil	<i>para</i> -carboxilação	<i>para</i> -carboxilação
Fe ³⁺	<i>para</i> -carboxilação	Oxidação grupo metil	NR	NR

NR = não relatado

2.1.5 Metabolismo anaeróbio do fenol

Um dos primeiros relatos da degradação anaeróbia do fenol foi feito por Bakker (1977) apud Colberg e Young (1995), segundo o qual uma cultura mista consumiu fenol e formou CO₂ sobre condições desnitrificantes. Mesmo com pouca evidência experimental, Bakker propôs que o fenol foi reduzido a ciclohexanol, e então dehidrogenado a ciclohexanona com subsequente quebra hidrolítica do anel

(1) Bakker, G. Anaerobic Degradation of aromatic compounds in the presence of nitrate. **FEMS Microbiology Letters**, v. 1, p. 103-108, 1977.

aromático. Alguns pesquisadores como Tschech e Fuchs (1987, 1989) estudaram culturas puras capazes de crescer em fenol durante a degradação do nitrato. No entanto não houve formação nem degradação de ciclohexanol durante o crescimento anaeróbio. Ao invés disso, os pesquisadores demonstraram que o fenol foi inicialmente carboxilado a 4-hidroxibenzoato, seguido pela ativação da coenzima A e eliminação redutiva do grupo hidroxil para formar benzoil-CoA.

Segundo Londry e Fedorak (1992) existem poucos relatos dos intermediários da rota redutiva de degradação de fenol terem sido encontrados por outros pesquisadores. Na rota redutiva o anel aromático é reduzido, produzindo ciclohexanona como intermediário no metabolismo de fenol antes da quebra do anel, como mostrado na Figura 2.1.

No estudo de Kobayashi et al. (1989), foi testada a habilidade de dois consórcios, um degradador de fenol e um degradador de ácido benzóico na produção de metano a partir de uma variedade de intermediários propostos na rota do metabolismo anaeróbio do ácido benzóico.

Os consórcios adaptados degradaram completamente a CO_2 e CH_4 , 1000 mg fenol/L entre 5 a 7 dias e 3000 mg benzoato/L entre 5 a 7 dias. Os resultados indicaram que o metabolismo de fenol ocorreu via ácido benzóico. O mesmo foi observado por Béchard et al. (1990) em consórcio metanogênico enriquecido que transformou fenol em ácido benzóico. Na rota do ácido benzóico a *p*-carboxilação do fenol ocorreu sob condições metanogênicas, como mostrado na Figura 2.2.

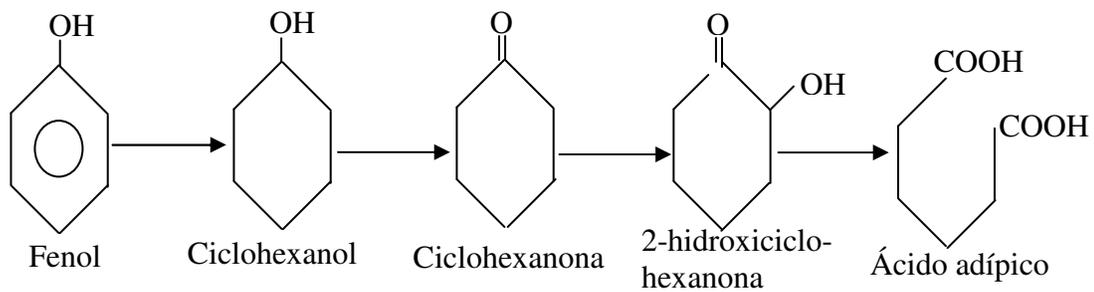


Figura 2.1 – Rota reductiva da degradação do fenol

Fonte: Londry e Fedorak (1992).

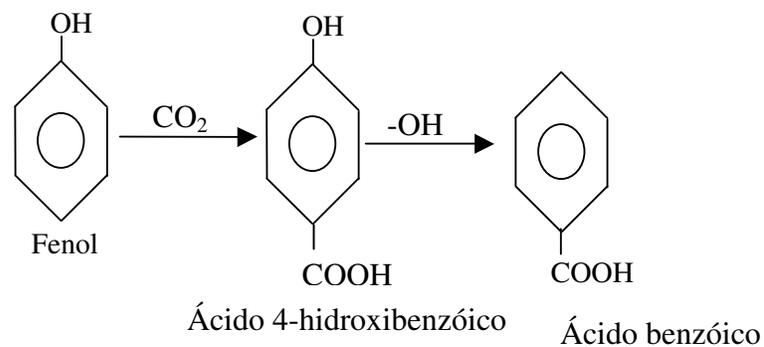


Figura 2.2 – Rota do ácido benzóico ou *p*-carboxilação do fenol

Fonte: Londry e Fedorak (1992).

Embora a velocidade de produção de metano tivesse sido maior no consórcio degradador de ácido benzóico do que no de fenol, Kobayashi et al. (1989) observaram que ambos consórcios degradaram benzoato, ciclohexano carboxilato, ciclohexano-1-enocarboxilato e caproato a metano.

Considerando o maior número de publicações descrevendo o ácido benzóico como intermediário na degradação do fenol e a falta de relatos detectando outros metabólitos, tais como ciclohexanona, na rota redutiva, evidenciou-se que a rota via ácido benzóico era a mais comum. Além disso, foi evidente a predominância de ácido benzóico como intermediário na degradação anaeróbia de muitos fenóis, incluindo fenol e isômeros do cresol. (LONDRY E FEDORAK, 1992).

No estudo de Gallert e Winter (1993), 50 mg/L de fenol foram absorvidos por células ativas e inativas no consórcio degradador de fenol estritamente anaeróbio. Com aumento da concentração de fenol no meio para 200 mg/L as células absorveram fenol até a saturação ser atingida em torno de 25 nmol/mg célula seca. O consórcio utilizou o fenol somente se o CO₂ estivesse presente ou junto com N₂ ou H₂ ou com ambos os gases fornecidos sucessivamente. O fenol foi degradado a acetato na presença de N₂:CO₂ (80:20%), benzoato foi formado na presença de H₂:CO₂ (80:20%) e acetato e benzoato foram encontrados após incubação com N₂:CO₂ seguida por H₂:CO₂.

Em condições que permitiram o metabolismo do fenol, os primeiros intermediários encontrados foram 4-hidroxibenzoil-coenzimaA e 4-hidroxibenzoato. O benzoato foi formado estequiometricamente quando a degradação do fenol a acetato foi impedida pelo H₂. Como o consumo de fenol por difusão pelo consórcio aparentemente não necessitou de energia, o aumento do crescimento observado com 4-hidroxibenzoato como substrato comparado ao fenol, indicou a geração de energia durante a decarboxilação.

Gallert e Winter (1994) observaram que a adição de 72 mg/L de 4-hidroxibenzoato à cultura mista degradadora de fenol resultou em aumento dos níveis celulares de ATP acompanhado pela formação de fenol. O aumento do nível de ATP durante a decarboxilação do 4-hidroxibenzoato pela suspensão celular da cultura degradadora de fenol indicou que a energia da decarboxilação do 4-hidroxibenzoato pode ser transformada em ATP.

Com o fenol como substrato, a cultura mista catalisou a carboxilação a 4-hidroxibenzoato, ativação para 4-hidroxibenzoil-CoA e dehidroxilação redutiva a benzoil-CoA, a qual foi convertida a benzoato pela tioesterase. A Figura 2.3 mostra a seqüência de reação de conversão de fenol a benzoil-CoA/benzoato.

O intermediário central da degradação anaeróbica ou anóxica de fenóis foi o benzoil-CoA, formado pela dehidroxilação redutiva ou deaminação de tioésteres CoA de fenóis substituídos.

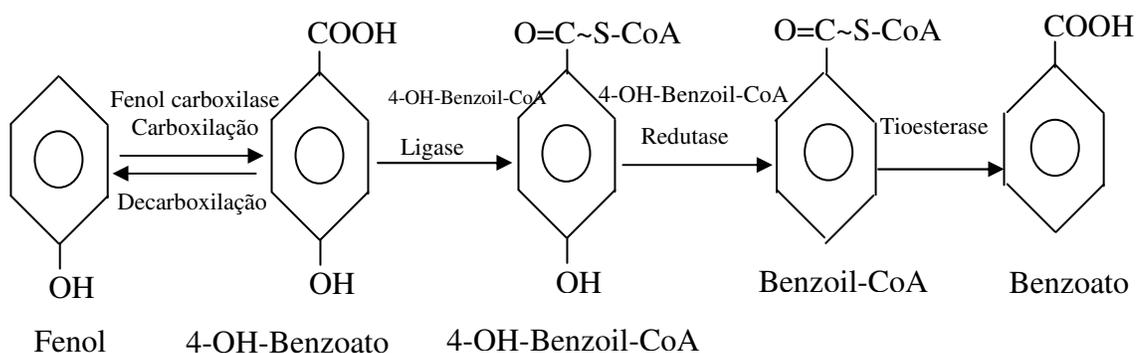


Figura 2.3 - Seqüência de reação de conversão de fenol a benzoil-CoA/benzoato por consórcio sintrófico degradador de fenol.

Fonte: Gallert e Winter (1994)

Fang et al. (1996) confirmaram a rota proposta por Kobayashi et al. (1996), segundo a qual fenol foi convertido a benzoato. Os autores utilizaram reator UASB com concentração de fenol de 420 mg/L e tempo de detenção hidráulica de 8 horas. A atividade metanogênica específica dos grânulos que utilizaram fenol como substrato foi menor do que dos grânulos que utilizaram formiato e acetato. Isto, combinado com o fato de que não foi detectado benzoato no efluente sugeriu que a conversão inicial de fenol a benzoato foi o passo limitante da taxa.

Os grânulos não apresentaram atividade metanogênica quando propionato e butirato foram utilizados como substratos. Isto indicou que a degradação do benzoato a acetato foi provavelmente produzida dentro da célula de *Syntrophus buswellii*, acetato foi então liberado para o meio para ser consumido pelas metanogênicas acetotróficas. O fato de que propionato ou butirato não foram detectados no efluente suportou esta hipótese.

2.2 Aspectos referentes ao reator anaeróbio de leito fluidizado

2.2.1 O reator anaeróbio de leito fluidizado

Devido à necessidade da operação dos reatores anaeróbios com baixos tempos de detenção hidráulica e elevados tempos de retenção celular foram desenvolvidos sistemas que incorporaram mecanismos de retenção de biomassa, denominados sistemas de alta taxa. Os reatores anaeróbios de alta taxa podem ser classificados em dois grandes grupos, de acordo com o tipo de crescimento de biomassa no sistema,

crescimento microbiano disperso e crescimento microbiano aderido (CHERNICHARO, 1997).

Os dois processos mais conhecidos para o tratamento anaeróbio com crescimento aderido são o filtro anaeróbio e os processos de leito expandido, utilizados para o tratamento de resíduos orgânicos carbonáceos (METCALF E EDDY, 1979).

Nos processos de leito expandido e fluidizado a biomassa cresce em filmes de espessura reduzida, aderida a partículas de tamanho pequeno. A expansão e fluidização do meio reduzem ou eliminam os problemas de entupimento, além de aumentarem a retenção de biomassa e o contato desta com o substrato, permitindo, como consequência, reduções significativas dos tempos de detenção hidráulica nos reatores (CHERNICHARO, 1997).

O reator anaeróbio de leito fluidizado aplicado ao tratamento anaeróbio de águas residuárias foi desenvolvido por Jewell e colaboradores nos anos 70, visando ao aumento de retenção de grande quantidade de biomassa e, ao mesmo tempo, eliminando problemas de colmatção ocasionados pelo acúmulo de materiais sólidos nos interstícios, como ocorre em reatores de leito fixo (CAMPOS E PEREIRA, 1999).

O primeiro reator industrial foi construído em 1986 para o tratamento de água residuária de cervejaria. Desde então, diversos reatores industriais já foram desenvolvidos como pode ser observado na Tabela 2.3 (HOLST ET AL., 1997).

O reator de leito fluidizado consiste de um vaso cilíndrico contendo meio suporte inorgânico o qual é fluidizado pela velocidade ascendente do líquido criada pelas taxas de escoamento de alimentação e recirculação. Um separador no topo do reator garante a eficiência de separação do líquido, biogás e sólido.

Alguns fatores que contribuem para a eficiência do processo de leito fluidizado incluem (HICKEY E OWENS, 1981; DENAC E DUNN, 1988; BUFFIÈRE ET AL., 1995):

- a) máximo contato entre o líquido e o meio suporte;
- b) resistência difusional do filme líquido é mínima devido ao movimento da partícula e velocidade do líquido;
- c) problemas de canais preferenciais, empacotamento e retenção de gás, comumente encontrados em leito fixo, são evitados;
- d) habilidade de controlar e otimizar a espessura do filme biológico;
- e) pequenos meios podem ser usados, resultando em superfícies altamente específicas para a colonização biológica;
- f) melhor estabilidade e melhor eficiência de remoção de DQO, quando comparado com o reator anaeróbio de manta de lodo (UASB);
- g) menor requisito de área;
- h) pode ser operado sobre uma grande faixa de concentração orgânica e as taxas de degradação são proporcionais à concentração do efluente.

Tabela 2.3 - Referências industriais para o reator anaeróbio de leito fluidizado.

Fonte: Holst et al. (1997).

Indústria	Partida	Nº unidades	Diâmetro (m)	Poluição (kgDQO/d)
Cervejaria	1986	1	2,4	670
Cervejaria	1987	5	5,0	50000
Polpa e papel	1988	1	4,0	6000
Suco de uva	1988	1	5,0	4600
Amido	1989	2	5,0	13000
Bebidas leves	1990	1	4,5	6000
Leite/soro	1992	2	5,0	13000
Cervejaria	1993	2	4,5	7500
Amido	1993	1	6,0	12000
Polpa e papel	1994	1	4,5	3600
Chocolate	1995	1	4,5	4300
Ácido cítrico	1995	2	4,0	7200
Polpa e papel	1995	2	4,5	6600
Aromas	1996	1	3,2	2600
Preservantes/geléia	1996	1	4,5	4800
Comida enlatada	1996	1	4,5	7000
Milho	1996	1	6,1	22000

Para atingir altos escoamentos em reator com operação contínua, métodos de retenção celular são necessários para se prevenir a perda de células. As técnicas mais comuns são a imobilização dos microrganismos em suporte apropriado e o uso de membranas de filtração. A filtração em membranas não é muito utilizada em processos industriais (HECHT ET AL., 2000).

Independente do sistema de reator considerado, em todos os casos a imobilização do consórcio microbiano anaeróbio específico balanceado é a chave para o sucesso. As razões estão listadas a seguir (LETTINGA ET AL., 1997):

- a) pode-se alcançar alto tempo de retenção do lodo, com custos relativamente baixos;
- b) como resultado da predominância do consórcio bacteriano sintrófico balanceado com a biomassa imobilizada, a concentração de intermediários inibidores específicos pode ser mantida em um nível suficientemente baixo, a menos que o sistema esteja sobrecarregado ou exposto a condições ambientais deletérias;
- c) a cinética do processo de degradação é aumentada significativamente como resultado da presença do consórcio bacteriano balanceado imobilizado nos agregados, providenciando que eles não cresçam muito densos;
- d) a imobilização da biomassa disponível é fator importante para a susceptibilidade à temperatura, por exemplo, do lodo termofílico.

Em um reator anaeróbio de leito fluidizado o filme microbiano é retido por meio da adesão natural dos microrganismos às partículas de suportes sólidos. Uma

vez que o desempenho do processo é dependente da população microbiana presente no sistema, é fundamental conhecer a influência de parâmetros operacionais, fatores físico-químicos e diferentes propriedades do meio suporte (densidade, rugosidade, porosidade) no processo de formação do biofilme (HIDALGO E GARCÍA-ENCINA, 2002).

2.2.2 Biofilme

Segundo Costerton et al. (1995) apud Ribeiro (2001), biofilmes são populações microbianas, presas a matrizes de polissacarídeos, onde os microrganismos podem se aderir uns aos outros e/ou superfícies ou interfaces. De acordo com esta definição, consórcios microbianos na forma de grânulos encontrados em reatores anaeróbios, flocos ou agregados presentes nos sistemas de lodos ativados e biomassa aderida a suportes podem ser considerados como sendo biofilmes.

Biofilmes, na forma de biomassa aderida a suportes, vêm sendo utilizados em reatores biológicos para o tratamento de águas residuárias. Reatores com biofilme fixo permitem que o processo anaeróbio obtenha bom desempenho com grande estabilidade, já que estes reatores são os que propiciam maiores razões entre o tempo de retenção celular e o tempo de residência hidráulico (SPEECE, 1996).

Estudos recentes têm investigado o papel do crescimento do biofilme no desempenho do reator de leito fluidizado (HOLST ET AL., 1997; BUFFIÈRE ET AL., 1998). O crescimento da biomassa no suporte afeta a hidrodinâmica do leito por

(2) Costerton, J.W.; Lewandowski, Z.; Caldwell, D.E.; Korber, D.R.; Lappin-Scott, H.M. Microbial biofilms. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 49, p. 711-745, 1995.

modificar seu tamanho e densidade aparente. Além disso, após o período de partida do reator, muitos pesquisadores relataram a estratificação do leito especialmente quando uma velocidade constante de fluidização é aplicada em leitos com diferentes tamanhos de partículas.

A estratificação é o arranjo das biopartículas de acordo com a sua velocidade terminal. É atribuída a variações do tamanho da biopartícula e/ou densidade aparente ao longo da altura da coluna do reator. Este fenômeno ocorre, particularmente, quando o material suporte não tem tamanho uniforme ou, quando o crescimento do biofilme modifica a densidade aparente das partículas (partículas pequenas com diâmetro médio abaixo de 500 μm). Outra consequência do crescimento da biomassa é a modificação da cinética de degradação, que é atribuída, principalmente, à transferência de massa (BUFFIÈRE ET AL., 1998). Quando a camada de biofilme aderido ao meio suporte se torna excessivamente super desenvolvida, a densidade da partícula diminui e a partícula é arrastada pelo líquido ascendente ou biogás (HOLST ET AL., 1997; NICOLELLA ET AL., 2000).

O processo de formação de biofilme na superfície do suporte é iniciado por células suspensas presentes no líquido que ficam adsorvidas na superfície e depois crescem como biofilme, utilizando substratos da fase líquida. Como as células suspensas iniciam o processo de formação do biofilme, o número de células suspensas tem efeito na formação do mesmo, além de contribuir para a produção de metano. A natureza do leito em termos de espessura do biofilme e da distribuição de partículas depende da qualidade do inóculo usado durante a partida. A presença de

altas concentrações de metanogênicas leva a um grande número de partículas ser colonizada com formação de biofilme (SREEKRISHNAN ET AL., 1991).

Costerton et al. (1997) apud Ribeiro (2001), utilizando técnicas de microscopia confocal a laser de varredura, examinaram culturas puras em laboratórios e biofilmes retirados de ambientes naturais que possuíam grande diversidade de espécies. Eles constataram que a maioria dos biofilmes é composta de microcolônias de células envolvidas em matrizes de polímeros extracelulares (PEC) entremeadas por canais (“water channels”). Estes canais são formados pelas forças de cisalhamento exercidas pelos fluidos que atravessam o biofilme.

A partida e a operação de um reator de leito fluidizado requerem a formação rápida de filme balanceado, estável e com alta densidade na superfície da partícula. Isto significa, no caso anaeróbio, a presença de microrganismos acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos, que irão quebrar os complexos orgânicos e convertê-los em metano e gás carbônico. Os principais fatores que afetam a formação do biofilme são: taxa de diluição, carga de DQO, quantidade de inóculo (quantidade de SSV) e qualidade do inóculo (distribuição populacional de diferentes espécies em células suspensas) (SREEKRISHNAN ET AL., 1991).

Costerton et al. (1995) apud Ribeiro (2001), depois de uma grande série de análises quantitativas de biofilmes em vários ambientes, construíram uma base de dados que lhes permitiu prever a formação de biofilme em sistemas aquáticos, baseado nos seguintes princípios:

(3) Costerton, J.W.; Lewandowski, Z. The biofilm lifestyle. **Advances in Dental Research**, v. 11, n.1, p. 192-195, 1997.

- a) os microrganismos apresentam notável avidez por aderirem a superfícies;
- b) o grau de agregação do biofilme a superfícies em qualquer sistema aquático é controlado pela quantidade de nutrientes disponíveis para a reprodução das células e para a produção de polissacarídeos extracelulares;
- c) em ambientes extremamente oligotróficos, nutrientes orgânicos tendem a se associar às superfícies disponíveis, iniciando o desenvolvimento do biofilme, no entanto, os microrganismos geralmente não se aderem a superfícies em ecossistemas onde haja grande deficiência de nutrientes.

Usando estes princípios, pode-se prever se o biofilme irá se desenvolver em um determinado sistema. Além disso, pode-se verificar a acuidade dessas predições através de observações diretas dos sistemas estudados, dentro dos quais outros fatores locais podem ser igualmente importantes.

Segundo a revisão apresentada por Nicoletta et al. (2000), o biofilme pode ser definido como estrutura complexa coerente de células e de produtos celulares como polímeros extracelulares, os quais formam grânulos largos e densos espontaneamente, ou crescem aderidos a superfícies estáticas sólidas (biofilmes estáticos) ou em suportes suspensos (biofilmes em partículas suportadas).

Os agregados microbiológicos (tanto na forma de biofilmes, grânulos ou flocos) e o meio de cultura constituem duas fases distintas. Esta característica tem três maiores conseqüências:

a) A retenção de biomassa pode ser usada para melhorar a capacidade de conversão volumétrica do reator quando a conversão está limitada pela quantidade de biomassa presente;

Se nenhuma retenção de biomassa é aplicada, a concentração de biomassa depende somente da concentração de substrato na alimentação, e conseqüentemente grandes tempos de retenção são necessários na presença de alimentações diluídas. Dependendo das características de sedimentação dos agregados, a biomassa pode ser rapidamente separada (por sedimentação) do meio líquido e retida no biorreator. Neste sentido, grânulos e biofilmes suportados em partículas tem vantagem extra, pois podem ser separados mais facilmente do que os flocos (ou seja, é possível uma maior concentração de biomassa) e têm maior área superficial específica (ou seja, maior área de transferência de massa do que biofilmes estáticos).

b) O substrato precisa atravessar a interface agregado-líquido e ser transportado através do agregado para atingir as células microbianas e ser consumido;

Este transporte ocorre em geral por difusão e resulta em gradiente de concentração dentro do agregado. A profundidade da penetração do substrato em biofilmes depende principalmente da porosidade do biofilme, concentração de substrato no meio líquido, transferência de massa na interface líquido-biofilme e taxa de reação no biofilme.

c) Devido aos gradientes difusionais de concentração de substrato, também existe um gradiente da taxa de crescimento dentro do agregado;

Em sistemas de biofilmes multi-espécies isto levará a um biofilme com estrutura em camadas, onde os microrganismos com a mais alta taxa de crescimento serão encontrados na parte exterior do biofilme, enquanto organismos mais lentos serão encontrados no interior. Como resultado desta organização, organismos com lenta taxa de crescimento serão protegidos das forças cisalhantes externas, e menos perdidos devido ao desprendimento e arraste. Neste caso não somente a taxa de crescimento absoluto máxima deve ser considerada, mas a taxa máxima de crescimento sob as condições no reator (na presença de inibidor).

O grau no qual estas características são relevantes para um sistema específico depende, entre outros fatores, das propriedades físicas e estruturais (densidade, tamanho, porosidade, velocidade de sedimentação, etc.) dos agregados. As propriedades físicas e estruturais de biofilmes suportados em partículas e grânulos são similares, e também suas características hidrodinâmicas, transferência de massa e reação. Deste modo biofilmes suportados em partículas e grânulos podem ser considerados uma categoria única denominada biofilmes particulados.

A superfície de materiais inertes é o local utilizado preferencialmente pelos microrganismos no desenvolvimento de suas atividades metabólicas. Este fato foi comprovado em diversos estudos, os quais observaram que numa população de microrganismos, aqueles que estavam aderidos apresentaram maior atividade metabólica aos que permaneciam em suspensão (VAN LOOSDRECHT ET AL., 1987 apud RIBEIRO, 2001). Outra característica importante, é que a aderência dos microrganismos é freqüentemente maior durante a fase de crescimento exponencial,

(4) van Loodstrecht, M.C.M.; Lyklema, J.; Norde, W.; Schraa, G.; Zehnder, A.J.B. Electrophoretic mobility and hydrophobicity as a measure to predict the initial steps of bacterial adhesion. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, p. 1898-1901, 1987.

presumidamente como resultado do aumento da hidrofobicidade da parede celular nesta fase.

Segundo van Loosdrecht et al. (1990) apud Ribeiro (2001) a colonização por microrganismos na interface sólido-líquido pode ocorrer como na seqüência descrita:

a) Transporte Difusivo: os microrganismos, quando em suspensão, possuem movimento Browniano devido aos choques entre eles que os possibilita ultrapassar a camada difusiva (camada limite ou filme estagnado) junto à superfície. O transporte difusivo é pequeno se comparado ao convectivo ou ao devido à mobilidade dos microrganismos.

b) Transporte Convectivo: este tipo de transporte de células se dá através do movimento do líquido que circunda os microrganismos e pode ser várias ordens de magnitude maior que o transporte difusivo, no entanto, em regiões próximas à superfície (camada difusiva) a difusão controla o processo.

c) Movimento Ativo: uma vez que o microrganismo esteja nas proximidades de uma superfície, ele pode se dirigir aleatoriamente até ela, ou então, ele pode se aproximar da superfície respondendo quimicamente ao gradiente de concentração de nutrientes que pode existir na região de interface.

A próxima etapa é a aderência inicial, a qual é preponderantemente um processo físico-químico, que pode ser reversível ou irreversível. A diferença não é muito clara, assim, para facilitar a compreensão do fenômeno, define-se a aderência reversível como sendo a deposição de microrganismos sob uma superfície onde estes ainda apresentem movimento Browniano e possam ser prontamente removidos por tensões de cisalhamento fracas ou pela mobilidade dos próprios microrganismos. Já

na aderência irreversível, os microrganismos não apresentam movimento Browniano e não podem ser removidos a menos que fortes tensões de cisalhamento estejam presentes.

Logo após a aderência inicial vem a etapa de fixação à superfície. Depois que o microrganismo está aderido na superfície, estruturas especiais da membrana celular (fibrilase ou polímeros) formam fortes ligações entre a membrana e a superfície do sólido fixando o microrganismo.

A última etapa é a colonização da superfície. Uma vez fixadas, as células começam a se multiplicar, promovendo o crescimento da biomassa, onde as novas células permanecem aderidas umas as outras, formando o biofilme.

Um uso extenso dos biofilmes é feito no campo da biotecnologia ambiental por três razões principais:

- a) comparados com a maioria dos outros bioprocessos industriais, grandes volumes de soluções aquosas diluídas precisam ser tratados;
- b) são usadas populações mistas de microrganismos naturais que formam biofilmes rapidamente;
- c) o processo pode ser operado com alta concentração de biomassa no reator, sem a necessidade de sedimentadores para retenção de biomassa e recirculação.

Um passo de polimento do efluente geralmente é necessário para remover biomassa suspensa remanescente (desprendida).

2.2.3 Material suporte

Os primeiros estudos sobre a influência da utilização de materiais inertes, como areia, pérolas de vidro, etc. no processo de adesão microbiana datam do início do século. Porém só mais recentemente tem-se estudado com maior frequência os efeitos da superfície do sólido sobre a adesão microbiana. A influência da superfície sólida sobre a atividade bacteriana é complexa, e pode ser extremamente difícil de ser avaliada, por uma série de razões, principalmente em meio ambiente natural (FLETCHER, 1985 apud TAVARES, 1992). A primeira dificuldade seria entender o que significa atividade ou ainda selecionar que parâmetros seriam relevantes para medir tal atividade, que dariam uma indicação do processo metabólico. A segunda dificuldade é caracterizar e quantificar a população bacteriana suspensa e aderida, uma vez que ela pode ser bastante heterogênea, como é o caso dos leitos fluidizados.

A influência da natureza química do suporte sobre a fixação microbiana é muito difícil de ser avaliada, uma vez que as características da superfície sólida, dependendo das condições experimentais podem aumentar, inibir, não causar nenhum efeito, ou ainda causar vários destes efeitos sobre a atividade microbiana, ainda que não esteja claro se a adesão à superfície é um pré-requisito para o efeito observado (NAVARRO et al., 1984; FLETCHER, 1985 apud TAVARES, 1992). Não obstante a isso, vários autores são unânimes em afirmar a importância da superfície do sólido na sua colonização bem como na fixação dos microrganismos.

(6) Fletcher, M.; Floodgate, G.D. Effect of solid surface on the activity of attached bacteria, in bacterial adhesion. D.C. Savage & M. Fletcher, Ed. Plenum Press, New York, 1985.

(7) Navarro et al. Leuvres Immobilisées: Croissance et Metaboliemé. In NOUVION, N., 1985.

Os efeitos das propriedades de superfície de suportes podem ser classificados em duas categorias:

a) Carga da superfície *versus* adesão microbiana:

A superfície do microrganismo em condições de pH usuais é carregada negativamente, e esta carga também é apresentada em muitos materiais considerados como suportes potenciais, sendo a maior parte polímeros orgânicos. Uma modificação é necessária para diminuir a repulsão elétrica e assim criar uma atração entre o microrganismo e o suporte.

A modificação da superfície pode ser obtida adicionando cargas positivas através de ácidos (LIU, 1994 apud BERGAMASCO, 1996) ou outras técnicas que empregam íons metálicos.

b) Hidrofobicidade das superfícies *versus* adesão microbiana:

A hidrofobicidade é uma afinidade habitualmente considerada como uma força de curta distância entre a superfície do suporte e a bactéria, sendo necessário levar em conta as seguintes interações: dipolo-dipolo, dipolo induzido, íon-dipolo e pontes de hidrogênio.

Segundo Rutter (1980) apud Bergamasco (1996), esses efeitos de curta distância são particularmente importantes dentro dos sistemas aquosos que podem ser repulsivos ou atrativos, dependendo da natureza das superfícies.

(8) Liu, Y. Dynamique de croissance de biofilmes nitrifiants appliques aux traitements des eaux. Thèse Doctorat, INSA, Toulouse, France, 1994.

(9) Rutter, P.R. The physical chemistry of the adhesion of bacteria and other cells. In: CURTIS, A.S.G. & PITTS, J.D., (eds.) – Cell adhesion and mobility, Cambridge University Press, p. 103- 136, 1980.

Muitas pesquisas mostram que os microrganismos hidrófobos têm uma preferência pelas superfícies hidrófobas. Fletcher *et al.* (1979) e Busscher *et al.* (1986) apud Bergamaso (1996) observaram uma relação quase linear entre a adesão microbiana e a hidrofobicidade para uma série de materiais poliméricos, tais como: nylon, poliestireno, polietileno, etc.

c) Efeito da rugosidade na adesão microbiana:

O efeito da rugosidade do material suporte sobre a adesão microbiana é um assunto que vem merecendo especial atenção por parte de vários pesquisadores, porém resultados conclusivos são bastante difíceis de se obterem, principalmente devido à dificuldade de realização de medidas quantitativas da rugosidade.

Segundo Liu (1994) apud Bergamasco (1996), pode-se dividir a rugosidade superficial em duas classes distintas:

Microrugosidade: que se refere a uma baixa rugosidade de superfície, como a apresentada na camada viscosa de um material polimérico sem tratamento.

Macrorugosidade: caracterizada pela rugosidade superficial maior que a da camada viscosa de um material polimérico bruto.

Ainda segundo o autor, para um suporte pouco rugoso, as colônias microbianas são expostas a forças de cisalhamento do líquido, conduzindo a um grande desprendimento e à formação de um filme homogêneo e fino.

(10) Busscher, H.J. et al. Reversibility of adhesion of oral *Streptococci* to solids. **FEMS Microbiology Letter**, 35: 303-306, 1986

(11) Fletcher, M.; Loeb, G.L.I. Influence of substratum characteristics on the attachment of a *Marine pseudomona* to solid surface. **Applied and Environmental Microbiology**, 37: 67-72, 1979.

(12) Liu, Y. Dynamique de croissance de biofilmes nitrifiants appliques aux traitements des eaux. Thèse Doctorat, INSA, Toulouse, France, 1994.

Em contrapartida, para suportes que apresentam macrorrugosidade, a situação é diferente, pois o biofilme se desenvolve inicialmente apenas dentro das cavidades da superfície, onde os microrganismos são protegidos das forças de cisalhamento. Os microrganismos ficam firmemente ligados à superfície do suporte, porém o biofilme formado é irregular e não homogêneo. Conclui-se, portanto, que a rugosidade da superfície influencia na morfologia e desenvolvimento do biofilme. Entretanto, é difícil afirmar qual é a rugosidade ótima para se obter uma melhor acumulação de biomassa. A Figura 2.4 ilustra o exposto.

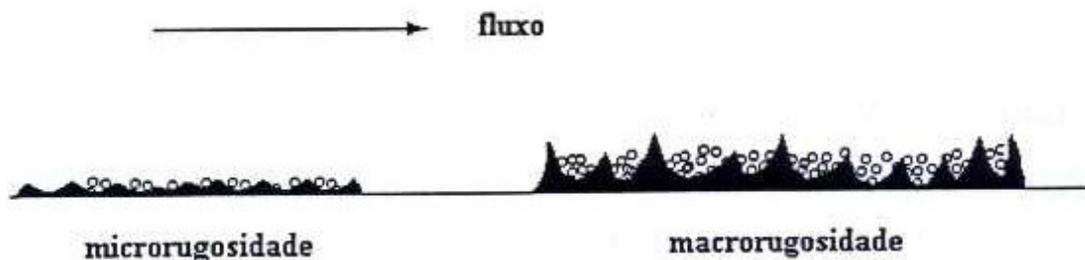


Figura 2.4 – Interpretação esquemática da acumulação do biofilme sobre a superfície do suporte de rugosidades diferentes.

Fonte: Liu (1994)

Surge então a necessidade de se estabelecerem características mínimas que deveria possuir um material suporte para ser empregado como suporte, para a imobilização de microrganismos em reatores de leito fluidizado.

De acordo com Oger (1989) apud Tavares (1996), o material suporte deve possuir as seguintes propriedades:

- a) deve se caracterizar por um estado de superfície essencialmente poroso, permitindo uma melhor aderência da biomassa;
- b) apresentar superfície específica maior possível;
- c) permitir a adsorção de substâncias poluentes a serem tratadas e das enzimas extracelulares produzidas pelos microrganismos;
- d) apresentar uma boa resistência mecânica;
- e) possuir um tamanho ótimo para as condições de funcionamento do reator.

Em 1985, por sua vez, a companhia francesa “Lyonnaise des eaux” divulgou em um dos seus relatórios internos, as características exigidas para um material suporte (TAVARES, 1992):

- a) tamanho efetivo da ordem de 10^4 a 10^5 μm , para permitir uma maior superfície de troca por unidade de volume do reator;
- b) densidade próxima a da água, porém maior que um, de modo que o material recoberto com biomassa sedimente naturalmente;
- c) porosidade – não há um valor preciso, porém devem-se evitar os materiais muito lisos;
- d) partículas resistentes ao atrito;

- e) as partículas devem ser as mais uniformes possíveis, para evitar problemas de segregação com a expansão do leito;
- f) composição química – o material não deve ser solúvel no líquido a ser tratado.

Boespflug et al. (1986) e Lertpocasombut et al. (1988) apud Tavares (1992) propõem a utilização de materiais poliméricos como uma alternativa aos materiais comumente utilizados em reatores biológicos de leito fluidizado. As principais vantagens destes materiais são:

- a) compatibilidade com o crescimento do biofilme (não tóxicos, adesão bacteriana fácil);
- b) área superficial suficiente para a colonização;
- c) densidade ligeiramente maior que a da água;
- d) características físicas (densidade, diâmetro) conservadas quando do crescimento microbiano;
- e) baixo custo;
- f) boa resistência mecânica.

Em conclusão, as características morfológicas, como o tamanho efetivo, o tamanho médio, o coeficiente de uniformidade, a forma das partículas, determinam sua utilização em leitos fixos ou fluidizados. No caso dos reatores de leito fluidizado, a energia de fluidização, depende da densidade e do tamanho do material suporte. A estratificação resultante da diminuição da densidade aparente das biopartículas é tanto maior, quanto maior for a densidade do material suporte.

(14) Boespflug, X.; Combes, P.; Laborie, A. Etude des paramètres biologiques et hydrodynamiques d'un réacteur a lit fluidise. Mémoire Dea, Ingénierie du Traitement et de l'Épuration des Eaux, INSA, Toulouse, France, 1986.

(15) Lertpocasombut, K., Capdeville, B., Roques, H., Application of aerobic biofilm growth in a three-phase fluidized bed reactor for biological wastewater treatment, Bangkok, Thailande, 1988.

2.2.4 Formação de biofilme na partida e operação de reatores de leito fluidizado

Stronach et al. (1986) estudaram os fatores que afetam a adesão do biofilme durante a partida e a operação de reatores de leito fluidizado. Neste estudo foram utilizados três reatores de leito fluidizado de 4L, aquecidos com banho em 37°C, preenchidos com areia como material suporte, utilizando água residuária sintética de extrato de carne como fonte de matéria orgânica.

A influência da adição de um polímero sintético e a utilização de metanol para aumentar a fixação microbiológica foram estudados. A adição do polímero sintético diminuiu a turbidez e melhorou a sedimentação do lodo e a fixação microbiana. A retenção inicial de biomassa foi aumentada, mas o desempenho do processo foi fraco, sugerindo que o polímero possa ter interferido na seleção e estabelecimento das populações microbianas. A variação na carga de alimentação favoreceu a formação de uma população não balanceada no sistema com polímero causando instabilidade no sistema.

Neste trabalho, crescentes expansões do leito também foram aplicadas para determinar seus efeitos na formação do biofilme. Para expansão de 5% do leito, a retenção de biomassa foi prejudicada, no entanto, quando se aplicou expansão de 10 a 30%, a estabilidade do sistema foi restabelecida, partida do reator foi alcançada em 56 dias. Um dos mais sérios problemas nos processo anaeróbios é o prolongado período para o “*startup*”. Essa condição é atribuída à baixa taxa de crescimento dos microrganismos e, portanto, lento acúmulo de biofilme ativo. A passagem da carga

orgânica durante o “*startup*” foi lenta para proporcionar condições favoráveis para o rápido desenvolvimento do biofilme e, portanto, alta concentração de biomassa.

Os autores ainda afirmaram que normalmente a anaerobiose é estabelecida gradualmente pela produção de biogás no reator. Porém nesse trabalho a adição de nitrogênio para estabelecer a anaerobiose gerou alguns benefícios.

Lauwers et al. (1989) estudaram a influência da composição do meio, do inóculo e do procedimento de inoculação no início do desenvolvimento do biofilme em um reator metanogênico de leito fluidizado, em escala de laboratório. Dentre as considerações feitas pelo autor os traços de minerais, mas não vitaminas utilizadas para preparação do meio, foram de essencial importância no desenvolvimento do biofilme.

Sreekrishnan et al. (1991) estudaram os efeitos da taxa de diluição, carga de DQO, quantidade e qualidade de inóculo na formação do biofilme e desempenho do reator anaeróbio de leito fluidizado. O monitoramento foi feito através da observação microscópica do filme e da superfície, através da produção de ácido e metano e da taxa de redução de DQO. A alimentação consistiu de uma solução de glicose, extrato de levedura e nutrientes com uma DQO de 11000 mg/L.

No estudo dos efeitos da taxa de diluição os autores observaram que houve a formação do biofilme quando altas taxas de diluição foram empregadas. A natureza do leito em termos de espessura do biofilme e distribuição das partículas dependeu da qualidade do inóculo usado durante a partida. A presença de altas concentrações de metanogênicas no inóculo aumentou a capacidade de remoção de DQO aumentando a taxa de produção de metano e a formação do biofilme. A produção de metano por

unidade de DQO removida apresentou um decréscimo gradativo com o aumento dos níveis de DQO no reator. Isto foi devido ao acúmulo de ácidos graxos voláteis que resultou na inibição das metanogênicas. Não foi observada formação de biofilme para altas cargas de DQO.

González et al. (1992) estudaram o desenvolvimento de biofilmes em folha de polietileno e partículas, usando uma mistura de ácido acético, propiônico e butírico como substrato. Os resultados demonstraram uma imobilização preferencial dos microrganismos acetoclásticos (fermentam compostos com um mais carbonos a ácido acético) na região central da superfície, e colonização dos microrganismos “butirotróficos” nas extremidades.

Buffiere et al. (1998) estudaram a cinética das biopartículas na fermentação da glicose em reator anaeróbio de leito fluidizado. Notou-se uma estratificação ao longo do reator, observando-se a diferença na formação do biofilme ao longo do leito. Nos lugares onde o filme era mais espesso havia maior atividade metanogênica e onde o biofilme era mais fino havia maior atividade acetogênica. Neste estudo o reator utilizado tinha uma altura de 1,5m e 0,115m de diâmetro com volume ocupado de 15L. O material suporte usado foi rocha vulcânica com densidade de 1990 Kg/m³. Simulações e resultados experimentais indicaram que a espessura do biofilme formado influencia na sua composição. Biofilmes espessos dificultam a difusão de substrato, limitando a atividade dos microrganismos acetogênicos, o que explica a predominância de metanogênicos neste tipo de biofilme.

Mendonça (1999) estudou a caracterização do material suporte e a partida de um reator anaeróbio de leito expandido com volume de 32 m³, tratando esgoto

sanitário. Para caracterização do material suporte, o autor estudou partículas de poliamida, de polibutireno tereftalato e de carvão ativado granular. Os ensaios realizados durante a caracterização dos suportes demonstrou que entre os três tipos de partículas, o carvão ativado granular foi o material mais adequado para compor o leito do reator, por ter apresentado melhor capacidade de aderência dos microrganismos, bem como menor possibilidade de arraste quando empregada elevadas velocidades ascensionais.

A operação do reator foi realizada durante 240 dias, sendo efetuada sem a adição de qualquer tipo de inóculo, e tendo como estratégia o estudo do eventual incremento da carga orgânica e diminuição do tempo de detenção hidráulico. A partida do reator se completou entre o 139º e 148º dia de operação, pois nesse período as porcentagens de remoção da DQO se situaram na faixa de 67% a 71%, para taxa de carregamento orgânico acima de 5,50 KgDQO/m³.dia.

Martinelli (2003) utilizou três reatores anaeróbios de leito fluidizado para estudar a formação e desenvolvimento de biofilme em três materiais suportes, PET (2,2 mm), PVC (2,2m) e poliestireno (2,2mm), durante a degradação de fenol. Lodo proveniente de resíduo de suinocultura previamente adaptado ao fenol foi utilizado como inóculo e a concentração inicial de fenol nos três reatores foi de 100 mg/L. Antes de serem colocadas no reator, as partículas foram ativadas por contato com solução sulfocrômica e ácido nítrico concentrado conforme metodologia sugerida por Tavares (1992), objetivando favorecer a adesão microbiana.

Todas as partículas apresentaram desempenho satisfatório e com 20 dias de operação dos reatores foi possível visualizar colonização em estágio avançado. O

melhor resultado foi obtido para o reator com poliestireno como material suporte. A remoção de fenol mostrou-se estável e a concentração foi aumentada para 200 mg/L e após 8 dias a remoção de fenol foi de 100%. Os reatores com PET e PVC apresentaram problemas no ajuste da vazão de alimentação o que pode ter contribuído para baixa eficiência de remoção de fenol observada.

Sancinetti (2004) estudando reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de poliestireno como material suporte, observou que a degradação da água residuária sintética contendo fenol apresentou eficiência de 95% de remoção de fenol para concentrações de até 500mg/L, mesmo tendo apresentado algumas instabilidades durante a operação do sistema. As observações em microscópio de varredura mostraram boa adesão microbiana e a visualização em microscópio ótico indicou a presença de bacilos retos, ovalados, vibrios, espiralados e cocos, além da presença de morfologias semelhantes a *Methanosaeta sp.* em todas as fases de operação do reator. Neste estudo não foi feita uma análise quantitativa do biofilme.

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reator anaeróbio de leito fluidizado

O reatores utilizados para os experimentos foram construídos em acrílico transparente de 5 mm de espessura e apresentam as seguintes dimensões: altura de 80 cm e diâmetro interno de 3,5 cm. Os amostradores intermediários ao longo do comprimento do reatores foram colocados a 9,5 cm, 24,5 cm e 39,5 cm da base do reator. A temperatura foi mantida em 30 ± 1 °C por meio de encamisamento do reator em banho termostatizado.

A Figura 3.1 mostra uma fotografia dos reatores utilizados e as Figuras 3.2 e 3.3 mostram, em detalhe, alguns dos componentes dos reatores anaeróbios de leito fluidizado.

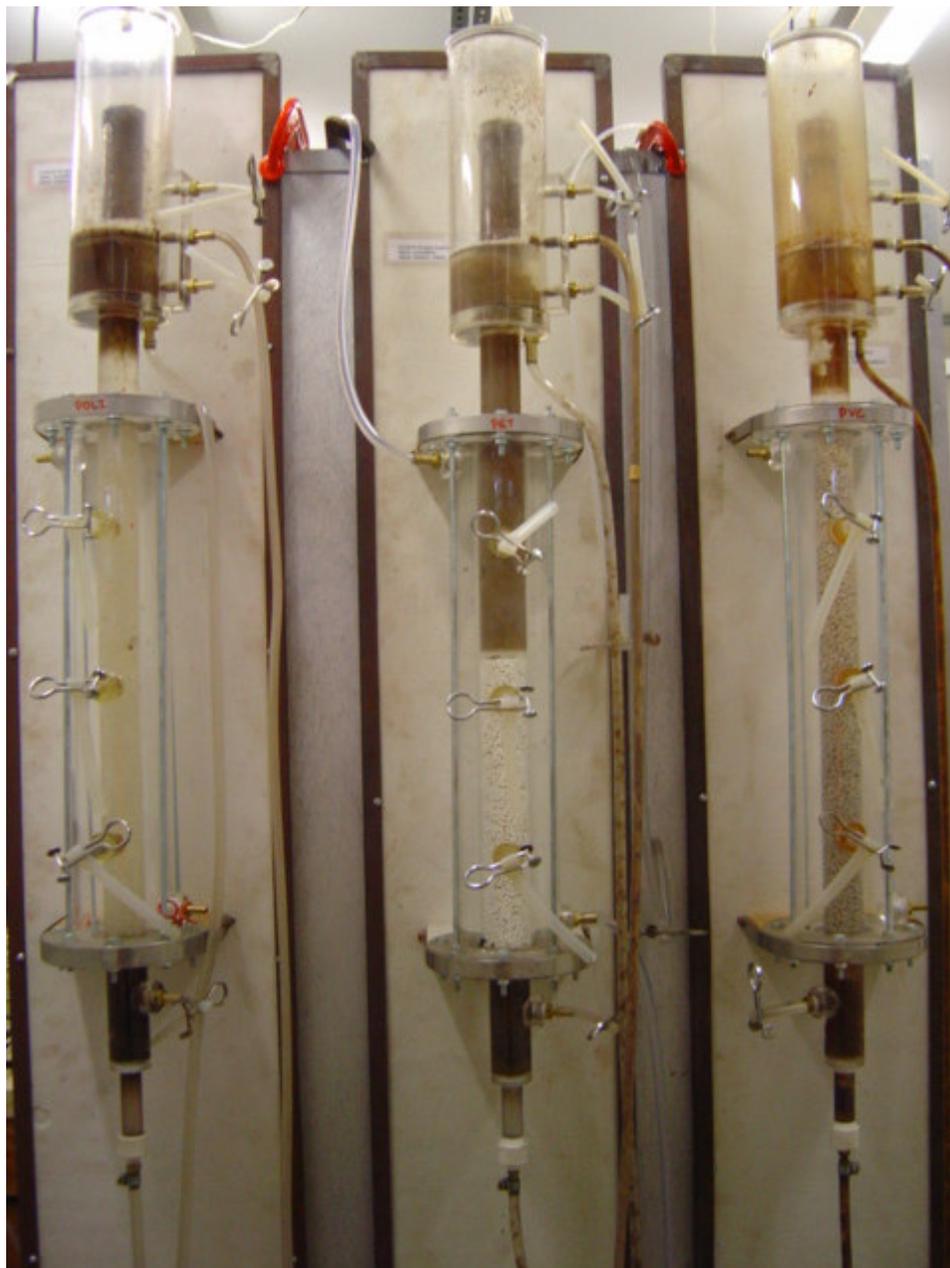


Figura 3.1 – Reatores anaeróbios de leito fluidizado.



Figura 3.2 – Difusor de fluxo da alimentação



Figura 3.3 – Topo do reator (Câmara de captação de gás e dispositivo para saída do efluente).

3.2 Água residuária sintética

A água residuária sintética foi preparada de acordo com Del Nery (1987) empregando fenol como principal fonte de carbono ao invés de glicose. As características da água residuária sintética para DQO de 1000 mg/L estão apresentadas na Tabela 3.1. A concentração da solução de nutrientes do meio reacional é proporcional a DQO do mesmo.

Tabela 3.1- Composição da água residuária sintética a base de fenol de acordo com Del Nery (1987) para DQO de 1000 mg/L.

Composto	Concentração (mg/L)
C_6H_5OH	300,0
NH_2CON_2	62,5
$NiSO_4 \cdot 7H_2O$	0,5
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	2,5
$FeCl \cdot 6H_2O$	0,25
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	23,5
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0,04
SeO_2	0,035
KH_2PO_4	42,5
K_2HPO_4	10,85
$Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$	16,7
$NaHCO_3$	1000,0

3.3 Inóculo

O inóculo utilizado nos reatores foi lodo proveniente de reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) que trata água residuária de suinocultura previamente adaptado à degradação do fenol.

3.4 Suporte empregado nos reatores anaeróbios de leito fluidizado

Partículas de poliestireno, polietileno tereftalato (PET), e cloreto de polivinil (PVC), foram empregadas como meio suporte para a imobilização da biomassa. As características das partículas como dimensão, densidade e velocidade de mínima fluidização são apresentadas na Tabela 3.2.

Os dados referentes à velocidade de mínima fluidização são dados experimentais obtidos por Martinelli (2003), em estudo semelhante a este sobre formação do biofilme em reatores anaeróbios de leito fluidizado tratando fenol.

Tabela 3.2 –Dimensão, densidade e velocidade de mínima fluidização para as partículas de poliestieno, PET e PVC.

Partícula	Φ (mm) [*]	ρ (g/cm ³)	V_{mf} (cm/s)
PET	5,0 x 3,0	1,25	1,35
PVC	5,5 x 3,0	1,11	1,16
poliestireno	4,0 x 2,5	1,05	0,74

Fonte: Martinelli (2003)

(*) partículas de formato cilíndrico, comprimento versus diâmetro.

3.5 Adaptação do inóculo ao fenol

O inóculo foi adaptado em água residuária sintética contendo fenol em meio reacional de Del Nery (1987), seguindo a metodologia adotada por Sancinetti (2004), em seus ensaios em batelada.

Inicialmente, quatro frascos Durans de volume útil de 2L cada, foram preenchidos com lodo. O volume do lodo utilizado representava 10% do volume da água residuária sintética. Em seguida, completou o volume desejado com água residuária sintética totalizando 1L. O concentração inicial desejada era de 100 mg/L de fenol. Foi fluxionado N₂ no *headspace* de cada frasco, em seguida foram fechados com tampas de butil e roscas plásticas. A adaptação foi realizada em ensaios bateladas em “*shaker*” sob agitação e temperatura controlada de 150 rpm e 30°C, respectivamente. As análises eram feitas diariamente.

À medida que os microrganismos se adaptavam ao fenol, ou seja, fenol estava sendo consumido mais rapidamente, adicionava-se mais solução contendo fenol nos frascos, aumentando gradualmente a concentração deste. Cada vez que se injetava fenol, o volume do inóculo era aumentado cerca de 50 a 100 ml por frasco.

3.6 Ativação das partículas utilizadas como meio suporte

As partículas utilizadas como meio suporte foram ativadas em banho ácido de modo a adquirirem condições adequadas para a fixação de microrganismos.

As partículas de poliestireno foram tratadas segundo o método utilizado por Tavares (1992). Primeiramente foram mergulhas em solução sulfocrômica por 40 minutos, em seguida lavadas com água, secadas e mergulhadas em ácido nítrico concentrado por 50 minutos. Em seguida, foram lavadas novamente e secadas em estufa a 40°C. No entanto, este procedimento foi aplicado quatro vezes para as partículas de poliestireno, identicamente ao procedimento usado por Sancinetti (2004), que observou em microscopia óptica e de varredura o aumento gradativo da presença de rugosidade nestas partículas.

As partículas de PET sofreram o mesmo tratamento que as partículas de poliestireno, no entanto notou-se uma perda de massa de 30% dessas partículas, não havendo a necessidade de outro banho em ácido.

As partículas de PVC depois de mergulhadas em sulfocrômica tornavam-se moles e com coloração escura. Optou-se então, em mergulhá-las apenas em ácido nítrico 20 minutos por uma única vez.

3.7 Ensaios preliminares em reator anaeróbio de leito fluidizado.

Sancinetti (2004), em sua tese de doutorado, monitorou um reator anaeróbio de leito fluidizado, idêntico aos usados neste trabalho, preenchido com partículas de poliestireno. O reator de Sancinetti (2004) demonstrou uma rápida partida e foi monitorado até a concentração de 500 mg/L de fenol na alimentação, demonstrando instabilidades em concentrações de 300 mg/L e 400 mg/L, devido a problemas com a bomba de recirculação e a presença de fungos. A estabilidade foi recuperada após optar por adição de levedura na alimentação e maior rigor na anaerobiose do sistema.

Ao término do trabalho, tal reator foi utilizado para testar os métodos à quantificação do biofilme. Foi estudado também um esquema de retirada e reposição de partículas usadas na quantificação do biofilme, já que para estas análises foi preciso retirar uma amostra contendo 8g de partículas de cada reator, cada vez que as realizassem. Para isto, foi construído um injetor de partículas em tubo de acrílico com 1 cm de diâmetro, acoplado em uma válvula que permitia passagem de nitrogênio usado para arrastar as partículas que estariam dentro do tubo para dentro dos reatores. Este mesmo injetor foi usado para a retirada de partículas em procedimento inverso, ao utilizar a própria água do reator para transferir uma amostra das partículas de leito para o injetor. Na reposição das partículas houve a necessidade de muito cuidado para minimizar a perturbação do leito dos reatores, minimizando também o desprendimento do biofilme dos suportes poliméricos. Assim, a injeção era feita no amostrador superior dos reatores.

3.8 Partida dos reatores anaeróbios de leito fluidizado

O primeiro passo desta etapa foi ajustar as condições fluidodinâmicas de cada reator. Para isto, foram utilizados os dados experimentais de velocidade de mínima fluidização de Martinelli (2003). Com estes dados foi possível calcular a vazão de recirculação necessária para que cada reator atingisse as condições de fluidização. Com o uso de um medidor de vazão acoplado em cada reator as bombas foram reguladas.

Com essas condições ajustadas optou-se primeiramente em dar a partida no reator preenchido com partículas de PET.

Inicialmente o reator foi preenchido com as partículas até sua altura correspondente, o suficiente para que atingisse pelo menos o segundo amostrador. Em seguida, para garantir condições de anaerobiose, gás N₂ (100%) foi fluxionado em todo o reator. No passo seguinte, o inóculo adaptado foi retirado do “*shaker*” e colocado diretamente no reator num volume total de 2800 ml. Nesta etapa foi acoplado um reservatório de líquido que suportasse tal volume. Novamente gás N₂ (100%) foi fluxionado no “*headspace*” do reator e no reservatório.

A próxima etapa foi o acionamento da bomba, deixando o sistema permanecer em recirculação como se estivesse em batelada. Nesta fase, monitorou-se a concentração de fenol do inóculo para que, em seguida, retirasse o reservatório de inóculo, acoplando mangueira de alimentação, passando assim a operar o sistema continuamente.

O reator preenchido com partículas de poliestireno foi inoculado 24h depois do reator com partículas de PET, seguindo o mesmo procedimento, e o reator preenchido com partículas de PVC, 21 dias depois. A Tabela 3.3 apresenta as condições usadas em cada reator.

Tabela 3.3 – Parâmetros usados nos reatores de leito fluidizado.

Partículas	Q_r (L/h)	M (g)	H_o (cm)	H_f (cm)	C_f (mg/L)
PET	60,77	226	30,5	34,5	403
Poliestireno	33,3	190	34	63	577
PVC	52,24	200	31	43,5 (60)*	405

onde: (*) altura do leito a partir do 10^o dia de operação.

Q_r : vazão de recirculação;

M : massa de partículas usada nos reatores;

H_o : altura correspondente a massa de partículas em leito fixo;

H_f : altura correspondente a massa de partículas em leito fluidizado;

C_f : concentração de fenol no inóculo.

A vazão de recirculação utilizada foi calculada a partir da velocidade de fluidização utilizada que por sua vez, foi 1,3 vezes maior que a velocidade de mínima fluidização.

3.9 Métodos analíticos

As análises físico-químicas foram efetuadas periodicamente. Todas as análises realizadas em amostras filtradas em membrana 0,45 μm , exceto sólidos voláteis totais. As análises de pH, DQO e sólidos voláteis totais foram feitas de acordo com o APHA: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1995). Ácidos voláteis totais, como ácido acético foram analisados de acordo com metodologia proposta por Dillalo e Albertson (1961) e alcalinidade, como CaCO_3 , conforme metodologia descrita por Ripley et al. (1986).

A metodologia empregada para análise de fenol foi a da CETESB L5.125 – Determinação de fenóis em águas – Método colorimétrico da 4-amino-antipirina (CETESB, 1990).

A quantificação da biomassa aderida às partículas foi realizada de maneira indireta, na forma de sólidos voláteis totais segundo o método descrito pela APHA (1995). Os polímeros extracelulares quantificados em termos de proteínas segundo o método de Lowry modificado por Peterson (1987), utilizando soro de albumina bovina como padrão, e carboidratos segundo o método de Dubois et al. (1956) utilizando lactose com padrão.

3.9.1 Caracterização microbiológica do biofilme anaeróbio

A morfologia das bactérias e a análise estrutural do biofilme foram avaliadas em microscópio eletrônico de varredura (Digital Scanning Microscope DSM 960, ZEISS).

A metodologia adotada para preparação dos suportes para MEV foi adaptada para biofilmes microbianos por Araújo (1995). As etapas realizadas foram as seguintes:

a) Fixação

Colocou-se a amostra em tubo de ensaio com glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato 0,1M pH 7,3 gelado, deixando aproximadamente 12 horas na geladeira (4 °C).

b) Lavagem

As amostras foram lavadas três vezes com tampão fosfato 0,1M pH 7,3 (gelado), durante 10 minutos cada lavagem.

c) Desidratação

A desidratação foi feita em álcool etílico gelado, considerando o seguinte procedimento:

50% - uma vez, durante 10 minutos,

70% - uma vez, durante 10 minutos,

80% - uma vez, durante 10 minutos,

90% - uma vez, durante 10 minutos,

95% - uma vez, durante 10 minutos,

100% - três vezes, durante 10 minutos cada.

d) Secagem 1

Transferiu-se o material suporte para placa de petri e colocou-se o hexametildisilazani (HMDS), deixando por 30 segundos. O procedimento foi realizado duas vezes.

e) Secagem 2

As amostras foram fixadas no suporte para MEV, usando esmalte incolor. O material foi transferido para estufa com temperatura de 35 °C e mantido por 1 a 2 horas.

f) Recobrimento com ouro

A amostra foi recoberta com ouro e observada em MEV. O microscópio eletrônico utilizado será o ZEISS DSM 960 do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo.

3.9.2 Quantificação da biomassa aderida

O método para quantificação de biomassa foi o mesmo utilizado por Ribeiro (2001) e Bertollo (2001).

Para quantificar a biomassa aderida ao suporte, foram medidos, aproximadamente, 4 gramas de partículas retiradas dos reatores e transferidas para um frasco de 40mL. A essas partículas adicionaram-se 10ml de água destilada. Em seguida, lacrou-se o frasco e promoveu-se a agitação do mesmo, em ângulo de 45°, durante 20 minutos para que a biomassa aderida soltasse das partículas.

O líquido foi separado das partículas para em seguida ser transferido para tubos de polipropileno de 15mL. Foram utilizados mais 5mL de água destilada para a lavagem das partículas. Todo líquido utilizado foi transferido para o tubo, perfazendo um volume final de 15mL. As partículas foram levadas para uma estufa com temperatura de 50°C, onde permaneceram por 24 horas. Posteriormente, as partículas foram transferidas para o dessecador até atingir a temperatura ambiente, em seguida, as partículas foram pesadas (P_{P1}).

O líquido foi centrifugado por 10 minutos a frequência de 3500rpm. Depois da centrifugação, o sobrenadante foi descartado e os sólidos ressuspensos com 10mL de água destilada, sendo transferidos para uma cápsula de porcelana previamente pesada (P_0), e mantidos em estufa temperatura de 100°C, por 24 horas. Logo após, a cápsula foi pesada (P_1). Na última etapa, a cápsula foi transferida para a mufla, ajustada para temperatura de 550°C, onde permaneceu por 2 horas. Em seguida pesou-se novamente a cápsula obtendo-se o valor de (P_2).

Os valores de sólidos suspensos totais e sólidos suspensos voláteis por grama de partícula foram obtidos a partir das seguintes expressões:

$$SST = \frac{(P_1 - P_0)}{P_{P1}} \quad (1)$$

$$SVT = \frac{(P_1 - P_2)}{P_{P1}} \quad (2)$$

3.9.3 Quantificação de polímeros extracelulares excretados

O procedimento para quantificação de polímeros foi também o mesmo usado por de Ribeiro (2001) e Bertollo (2001). Analogamente ao utilizado para a quantificação de biomassa foram medidos, aproximadamente, 4g de partículas retiradas dos reatores. Em seguida as partículas foram transferidas para um frasco de 40mL, no qual foi adicionado 10mL de solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,9%. Em seguida, lacrou-se o frasco e promoveu-se a agitação do mesmo durante 20 minutos para que a biomassa aderida soltasse das partículas.

O líquido foi separado das partículas e, em seguida, transferido para tubos de polipropileno de 15mL. Foram utilizados mais 5 mL de solução de NaCl 0,9% para a lavagem das partículas, os quais foram também transferidos para o tubo, perfazendo um volume final de 15mL. As partículas foram levadas para a estufa, ajustada para temperatura de 50°C, onde permaneceram por 24 horas. Em seguida, as partículas foram pesadas (P_{P2}).

O líquido foi centrifugado por 10 minutos a frequência de 3500rpm. Depois da centrifugação o sobrenadante foi descartado e os sólidos foram ressuspensos com 5mL de uma solução de padrão (NaCl 8,5% e formaldeído 0,22%). Esta solução permite a extração dos polímeros extracelulares, diminuindo a ocorrência de lise da membrana citoplasmática e minimizando a interferência devido à presença de material intracelular como usualmente ocorre nos métodos de quantificação de polímeros.

Em seguida, o tubo foi resfriado em banho de gelo e ,em seguida, levado para o homogeneizador de 40W durante 3 minutos. O líquido foi novamente centrifugado por 30 minutos a freqüência de 12000rpm. Logo a seguir, os polímeros extracelulares foram quantificados, em termos de proteínas, segundo o método de Lowry modificado por Peterson (1977) utilizando soro albumina bovina (SAB) como padrão, e de carboidratos, segundo o método de Dubois et al. (1956) utilizando lactose como padrão.

Os valores de polipeptídios (proteína) e polissacarídeos por grama de partícula, e polipeptídios e polissacarídeos por grama de SSV foram obtidos a partir das seguintes expressões:

$$mg\ Pr\ ot./\ g_{\ partícula} = \frac{C_{Pr\ ot.} * V_{Sol.Padrão}}{P_{P2}} \quad (3)$$

$$mg\ Carb./\ g_{\ partícula} = \frac{C_{Carb.} * V_{Sol.Padrão}}{P_{P2}} \quad (4)$$

$$mg\ Pr\ ot./\ g\ SVT = \frac{mg\ Pr\ ot./\ g_{\ partícula}}{SVT} \quad (5)$$

$$mg\ Carb./\ g\ SVT = \frac{mg\ Carb./\ g_{\ partícula}}{SVT} \quad (6)$$

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Adaptação do inóculo ao fenol

A adaptação do inóculo ao fenol foi feita em ensaios em batelada realizados em frascos Duran de 2L. Inicialmente foram preparados 4 frascos com 1L de inóculo cada, desses, 10% correspondia ao lodo de reator anaeróbio que trata resíduos de suinocultura e o restante, água residuária sintética contendo fenol. Os frascos foram preparados em condições assépticas, foi adicionado nitrogênio no “*headspace*” e mantidos em “*shaker*” sob agitação de 150 rpm e temperatura de 30°C.

Para analisar o consumo de substrato pelos microrganismos foram retiradas amostras periódicas para análise da concentração de fenol. Todas as amostras retiradas eram filtradas, para que não houvesse interferência dos microrganismos nas análises, e diluídas 100x em balão volumétrico.

Os frascos foram numerados de 1 a 4 e o consumo de substrato pelos organismos em cada frasco ao longo do tempo está apresentado na Tabela 4.1. A tabela apresenta os resultados obtidos no primeiro mês de adaptação. Nota-se, no início do ensaio, que o fenol foi consumido em aproximadamente 12 dias, e quando se observava o consumo deste, mais fenol era adicionado. Nas próximas etapas de adaptação, procurava-se suplementar uma concentração de fenol semelhante a anterior. Como o inóculo estava se adaptando, a degradação completa do fenol passou a ser em tempos menores, como isso, aumentava-se gradualmente a próxima

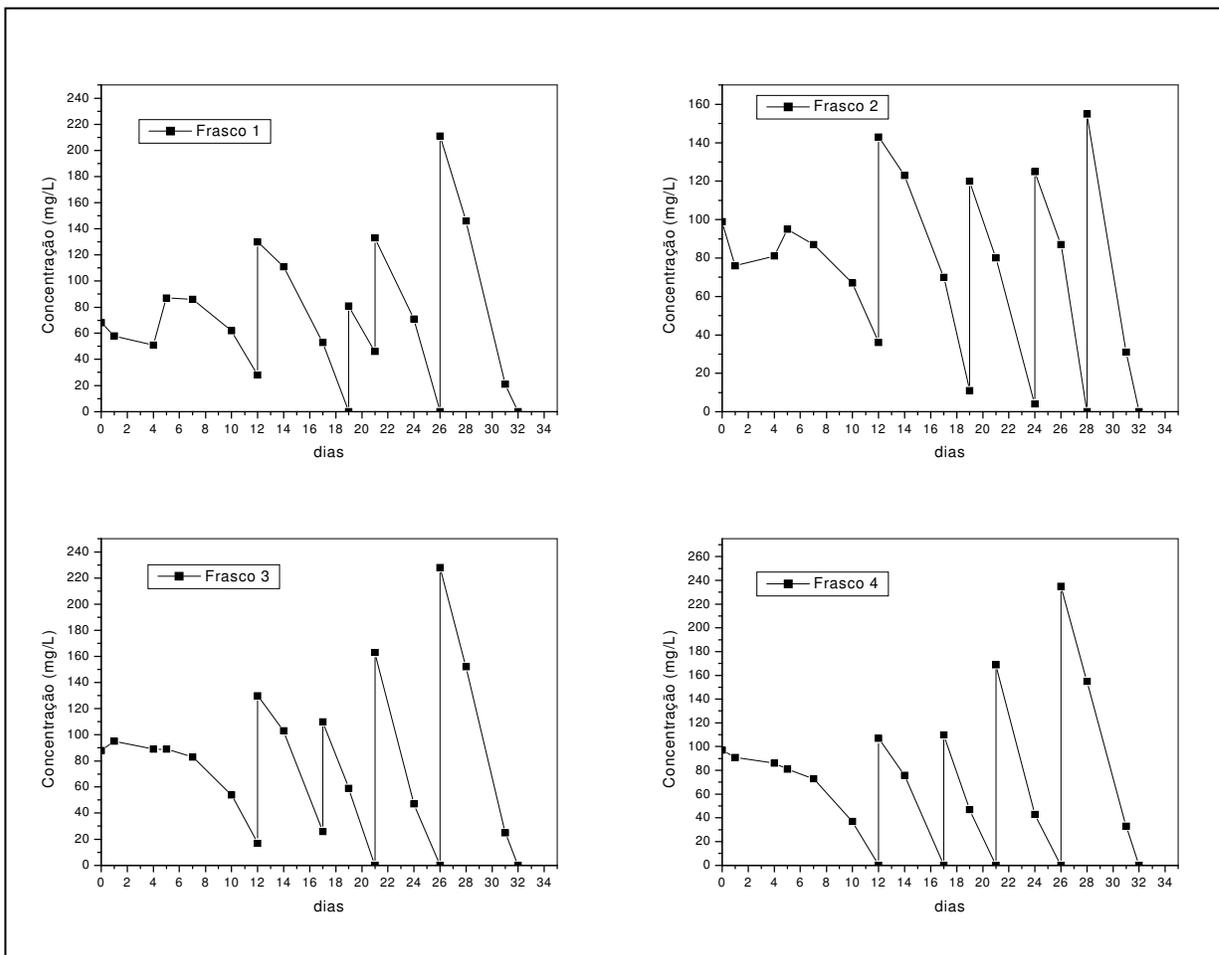
concentração de fenol adicionada, assim sucessivamente, para as outras concentrações superiores.

Tabela 4.1 – Resultados obtidos no primeiro mês de adaptação do inóculo.

Tempo (dias)	Concentração de Fenol (mg/L)			
	Frasco 1	Frasco 2	Frasco 3	Frasco 4
0	68	99	88	97
1	58	76	95	91
4	51	81	89	86
5	87	95	89	81
7	86	87	83	73
10	62	67	54	37
12	28	36	17	0
12 (*)	130	143	130	107
14	111	123	103	76
17	53	70	26	0
17 (*)	53	70	110	110
19	0	11	59	47
19 (*)	81	120	59	47
21	46	80	0	0
21 (*)	133	80	163	169
24	71	4	47	43
24 (*)	71	125	47	43
26	0	87	0	0
26 (*)	211	87	228	235
28	146	0	152	155
28 (*)	146	155	152	155
31	21	31	25	33
32	0	0	0	0

(*) análises realizadas após suplementação de fenol em algum frasco.

Os frascos apresentam comportamento diferente no processo de remoção de fenol apesar de terem sido preparados em condições semelhantes. Esta diferença pode ter ocorrido devido a variações na rota metabólica dos microrganismos ou condições não semelhantes de anaerobiose.



Figuras 4.1 – Curvas de degradação do fenol na adaptação do inóculo

Durante o início da adaptação cada vez que fenol era inserido nos frascos, acrescentava-se cerca de 100 ml de água destilada em cada frasco.

No final do primeiro mês os inóculos estavam sendo adaptados em concentrações de 200 mg/L. Neste período cada frasco apresentava um volume de inóculo de 1400 ml, assim, houve-se a necessidade de retirar uma porcentagem de inóculo de cada frasco e acrescentar em outro nomeado frasco 5.

Devido à falta de espaço em “*shakers*” foi acrescentada água destilada até um certo período, a partir daí, apenas as soluções de fenol e de micronutrientes eram inseridas em cada frasco.

O período de adaptação total foi de 150 dias, no final destes, o inóculo estava adaptado para concentrações próximas a 700mg/L, totalizando um volume de 9800ml de inóculo, dos quais, 2800ml foram usados para se inocular cada reator. Esta etapa de adaptação foi de grande importância neste trabalho, facilitando posteriormente a partida dos reatores.

4.1.1 Morfologias observadas nos inóculos

No final do primeiro mês de adaptação do inóculo, foram retiradas amostras dos frascos e visualizadas em microscópio ótico com a finalidade de observar as morfologias presentes.

A Figura 4.2 mostra que as morfologias encontradas são semelhantes a *Methanosaeta sp.* e *Methanosarcina sp.*, além da presença de bacilos, víbrios e bacilos fluorescentes.

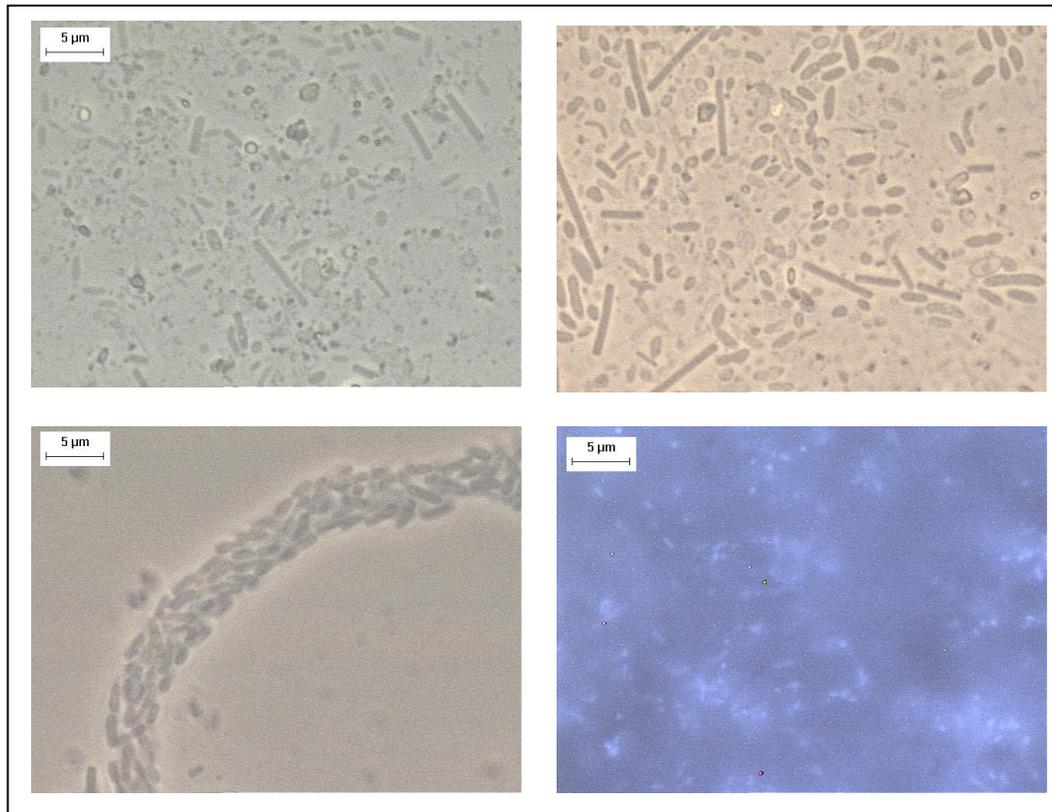


Figura 4.2 Morfologias observadas na adaptação do inóculo: bacilos, víbrios, bacilos fluorescentes, e morfologias semelhantes a *Methanosaeta sp.* e *Methanosarcina sp.*

4.2 Pré-monitoramento de um reator anaeróbio de leito fluidizado

Como mencionado anteriormente, o pré-monitoramento foi feito no reator anaeróbio de leito fluidizado utilizado por Sancinetti (2004), visando à aplicação dos métodos de quantificação do biofilme, e testes para retirada e reposição de partículas que seriam usadas como amostras.

As análises de proteínas e carboidratos mostraram-se adequadas para quantificação do biofilme em termos de exopolímeros, em reatores anaeróbios de leite fluidizado preenchidos com partículas de poliestireno. No entanto, esses parâmetros não foram monitorados. A Figura 4.3 mostra o acompanhamento da vazão de alimentação, a Figura 4.4 ilustra o monitoramento da concentração de fenol e a Figura 4.5 a porcentagem de fenol removida em 47 dias de operação.

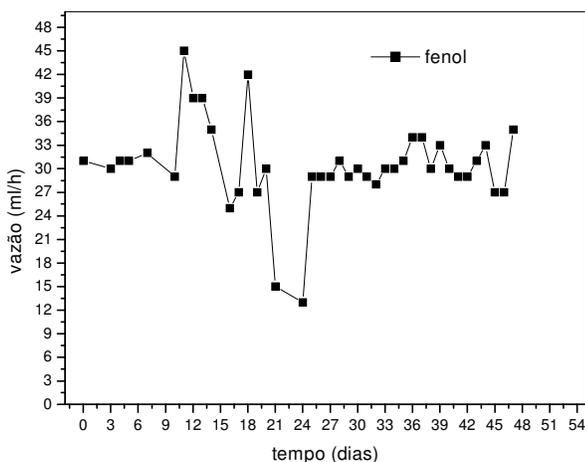


Figura 4.3 – Monitoramento da vazão de alimentação da água residuária no reator anaeróbio de leite fluidizado.

Para o TDH fixado neste trabalho, de aproximadamente 24h, a vazão de alimentação calculada foi 30ml/h. Devido à dificuldade de controlar tal vazão foi tolerado um erro de 30 ± 10 ml/h.

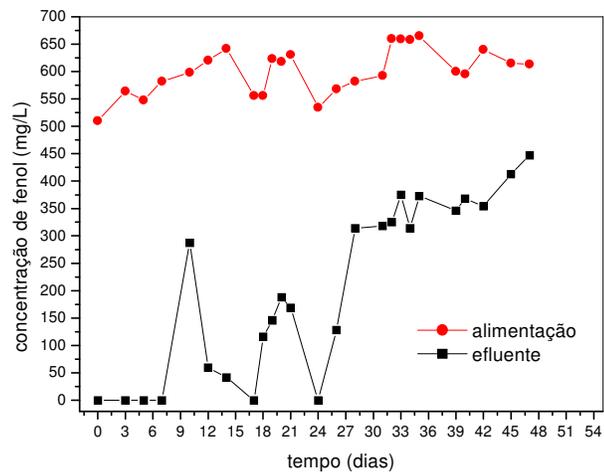


Figura 4.4 – Monitoramento da concentração de fenol na alimentação e no efluente do reator anaeróbio de leito fluidizado.

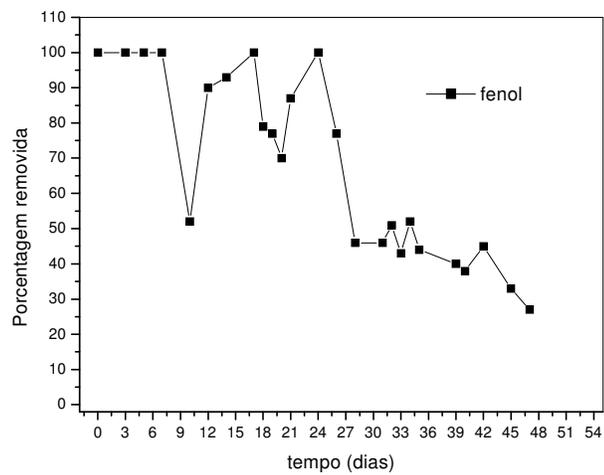


Figura 4.5 – Porcentagem de fenol removido no reator anaeróbio de leito fluidizado.

Analisando a Figura 4.3, nota-se uma certa instabilidade na vazão de alimentação do reator. Isto se deve ao fato da bomba de alimentação apresentar problemas de ajuste após um período de queda de energia. Como não se conseguia regular a bomba novamente foi necessário calibrar outra bomba, e ainda com o reator em funcionamento, substituir a bomba antiga. A partir daí observa-se estabilidade na alimentação. No entanto, o descontrole da vazão de alimentação afetou o tempo de detenção hidráulico da água residuária, conseqüentemente, a degradação do fenol passou a apresentar resultados não satisfatórios. Percebe-se que quando a vazão de alimentação estava alta, acima do normal, havia um decréscimo na eficiência de degradação do fenol, ao contrário de quando a vazão apresentava valores abaixo do normal, a eficiência aumentava.

Mesmo notando que o sistema não apresentava estabilidade na degradação do fenol, insistiu-se em continuar operando o reator fluidizado com uma concentração de fenol considerada alta para este sistema. Ao continuar operando o reator fluidizado, notou-se que a eficiência continuava diminuindo, e ao atingir um valor próximo de 25% resolveu-se cortar a alimentação do sistema, deixando o reator funcionar apenas em recirculação. Este fato nos fez acreditar que o reator possa ter atingido sua capacidade máxima de degradação quando a água residuária continha 600mg/L de fenol.

4.3 Inoculação dos reatores anaeróbios de leito fluidizado

Após as fases de adaptação do inóculo, tratamento ácido das partículas, projeto, construção e ajuste das condições fluidodinâmicas dos reatores de leito fluidizado, a próxima etapa foi a inoculação desses.

O primeiro a ser inoculado foi o reator preenchido com partículas de PET como material suporte. O reator com partículas de poliestireno foi inoculado no dia seguinte, o reator com partículas de PVC, 21 dias depois.

No processo de partida do reator anaeróbio de leito fluidizado, o inóculo a ser utilizado foi retirado do ensaio em batelada e colocado diretamente nos reatores já contendo as partículas a serem utilizadas. Foi fluxionado nitrogênio nos reatores para garantir anaerobiose, ligaram-se as bombas deixando os reatores permanecerem em recirculação até todo o fenol ser degradado, para posteriormente dar início a operação contínua. Para isto, análises diárias para medir a concentração de fenol foram feitas e os valores estão ilustrados na Figura 4.6:

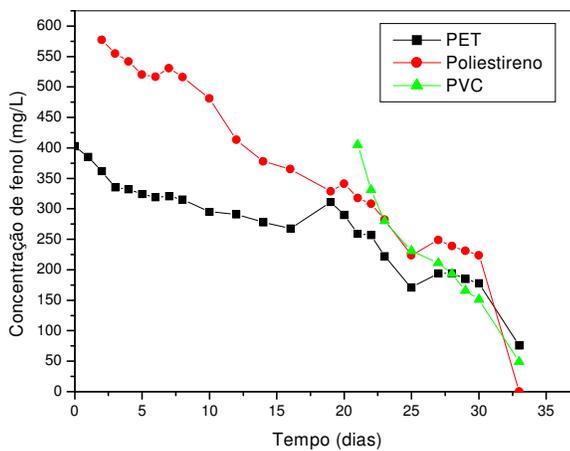


Figura 4.6 – Consumo de fenol durante a inoculação dos reatores.

Os valores apresentados na Figura 4.6 mostram que os reatores de preenchidos com PET e poliestireno demoraram cerca de 33 dias para que o fenol fosse degradado até a concentração ideal para a abertura do sistema. O reator com partículas de PVC demorou apenas 12 dias. Apesar do fato do reator preenchido com PVC apresentar um menor tempo para que fenol fosse degradado, notou-se que houve inibição dos microrganismos ao mudarem das condições de ensaios em batelada para as condições de fluidização nos reatores. Outro parâmetro observado foi o aumento constante de pH em todos os reatores, sendo necessário fazer correção. Segundo Speece (1996) a operação de um reator anaeróbio com pH abaixo de 6,5 ou acima de 8,3 pode ocasionar diminuição significativa da atividade dos microrganismos metanogênicos. Optou-se a controlar o pH com ácido sulfúrico concentrado.

4.4 Degradação anaeróbia de fenol em reator anaeróbio de leito fluidizado

4.4.1 Remoção de fenol para reator preenchido com partículas de poliestireno

As Figuras 4.7 a 4.9, mostram os resultados obtidos para a vazão de efluente, e os resultados da degradação de fenol ao longo da operação do reator.

A Figura 4.7 ilustra a vazão medida no efluente do reator. Nota-se um comportamento instável na vazão durante todo o ciclo de operação do sistema. Esse comportamento foi devido à sensibilidade da bomba quanto ao controle, já que esta possuía dois esquemas de válvulas que promoviam perda de carga possibilitando atingir a faixa de vazão permitida para o TDH utilizado próximo a 24 h. Acreditou-se

também que oscilações na rede elétrica estariam descalibrando as bombas. Vale ressaltar que a faixa permitida para a operação do sistema estaria entre 30 ± 10 ml/h.

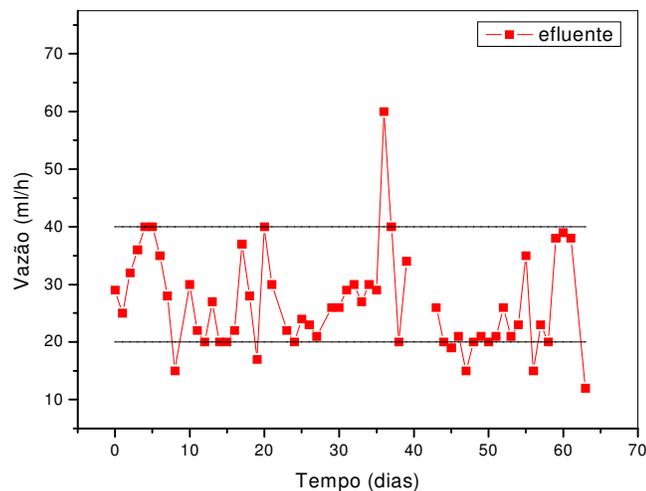


Figura 4.7 – Variação da vazão efluente ao longo do tempo para o reator preenchido com poliestireno.

Pode-se considerar que a partida do reator foi rápida e que o estado estacionário foi atingido após três dias de operação contínua com concentração afluenta de 100mg/L de fenol, devido à eficiência de remoção ter sido de 100% deste o início da operação. Sancinetti (2004), operando reator anaeróbio de leito fluidizado também obteve a partida em 3 dias, com alimentação inicial de 50mg/L de fenol.

A Figura 4.8 mostra como variou a concentração de fenol no afluenta e no efluente do reator.

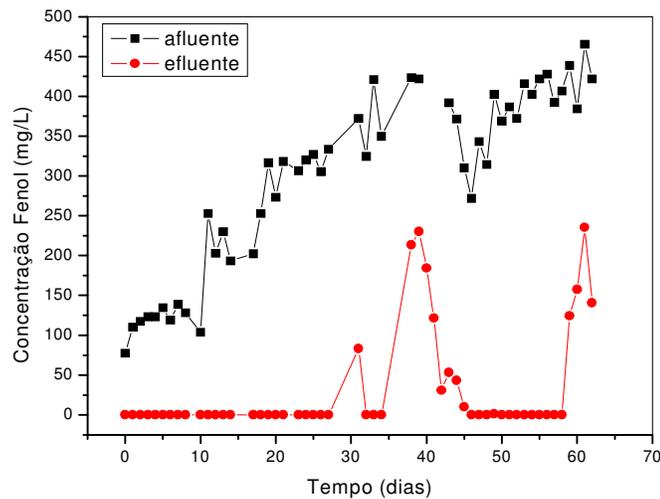


Figura 4.8 – Variação temporal da concentração de fenol para o reator preenchido com poliestireno.

A partida rápida do reator está relacionada com o fato do lodo utilizado estar adaptado à degradação do fenol, e devido a inicial manutenção do sistema em circuito fechado a fim de proporcionar a adesão microbiana nas partículas.

A Figura 4.9 ilustra a eficiência de degradação de fenol no reator de leito fluidizado preenchido com partículas de poliestireno durante toda a operação. A descontinuidade da linha indica que o reator necessitou operar em circuito fechado durante certo período devido a problemas que ocasionaram perda da eficiência.

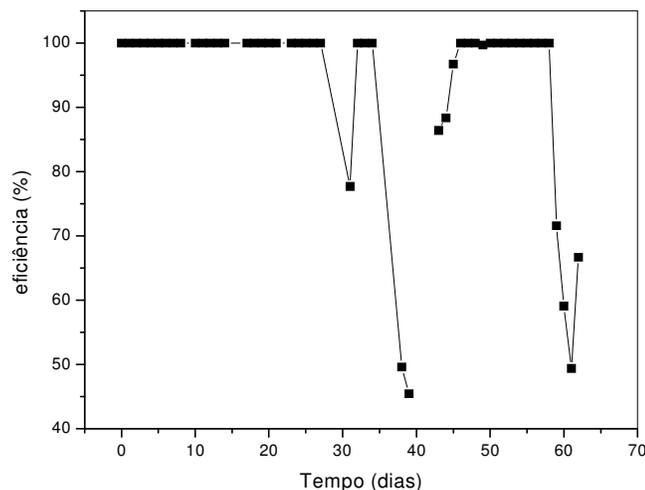


Figura 4.9 – Variação temporal da eficiência de remoção de fenol ao longo do tempo para o reator preenchido com poliestireno

Neste sistema a eficiência permaneceu em 100 % até o 35º dia de operação, com exceção do 31º dia, quando uma queda de energia desligou a bomba de refluxo, permanecendo apenas a bomba de alimentação funcionando durante 22h, no entanto, a estabilidade foi recuperada com a carga de 400mg/L de fenol.

A perda da eficiência no 38º dia foi ocasionada pela sobrecarga da concentração de fenol na alimentação, que estaria sendo aumentada de 300mg/L para 400mg/L, juntamente com uma sobrecarga devido ao aumento da vazão de alimentação. Esse fato fez com que a eficiência diminuísse bruscamente, optando-se a partir do 39º dia, por deixar o sistema em circuito fechado até verificar que todo fenol fosse degradado. Após o período em recirculação, o sistema foi reaberto no 43º dia com 300mg/L e aumentado gradualmente para 400mg/L, na condição que operou

com eficiência de 100% até o 58º dia, a partir daí começou a perder novamente a estabilidade, devido a sobrecargas aplicadas a essa concentração.

A Tabela 4.2 mostra os resultados médios das vazões e os respectivos TDH para cada faixa de concentração aplicada no reator, assim como a porcentagem média de remoção de fenol. Os valores médios para faixa de 400mg/L de fenol foi obtido após o período de estabilização.

Tabela 4.2 – Resultados médios obtidos, para cada faixa de concentração de fenol, aplicada no reator preenchido com partículas de poliestireno.

C fenol (mg/L)	% removida	vazão (ml/h)	TDH (h)*	TDH _r (h)**
100	100	35	22	17,3
200	100	25	30,8	24,2
300	98	26	29,6	23,3
400	89	26	29,6	23,3

* TDH: tempo de detenção hidráulico baseado na altura total do reator;

** TDH_r: tempo de detenção hidráulico baseado na altura do leito.

Considerando-se a altura do leito na fluidização (63 cm), ou seja, volume onde as reações ocorrem, pode-se calcular o TDH_r do mesmo modo que o TDH é calculado para a altura total do reator, conhecida a área da seção transversal.

Sancinetti (2004), obteve rendimento de 100% para concentrações de fenol de 50, 100 e 200 mg/L, no entanto, ao aplicar carga de 300mg/L de fenol o rendimento médio caiu para 86%, neste período problemas de incrustações na bomba de recirculação podem ter prejudicado a eficiência. Ao aumentar a concentração para 400mg/L o rendimento caiu para 46%, havendo a necessidade de cortar a alimentação

deixando o sistema funcionar em recirculação num período de 7 dias. Foi observada a contaminação por fungos neste período, com isto decidiu-se em adicionar extrato de levedura na alimentação para que favorecesse aumento da biomassa. Como o rendimento não foi restabelecido, Sancinetti (2004) diminuiu a concentração para 300mg/L aumentando-a gradualmente para 400mg/L e posteriormente 500mg/L, deste modo o reator passou a apresentar resultados satisfatórios para as condições operacionais impostas.

4.4.2 Remoção de fenol para reator preenchido com partículas de PET

As Figuras 4.10 a 4.12, mostram os dados obtidos para a vazão de efluente, e os resultados da degradação de fenol ao longo da operação do reator.

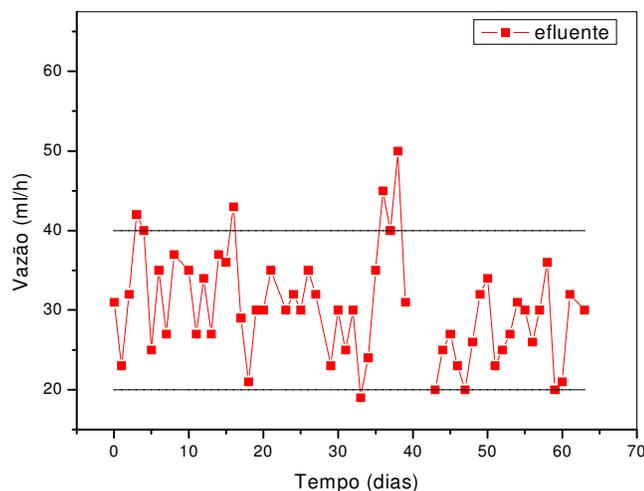


Figura 4.10 – Variação da vazão efluente ao longo do tempo para o reator preenchido com PET.

A partida para este sistema pode ser considerada rápida e o estado estacionário foi atingido após três dias de operação, de maneira semelhante ao reator preenchido com poliestireno.

A Figura 4.11 mostra como variou a concentração de fenol no afluente e no efluente do reator durante toda operação do sistema.

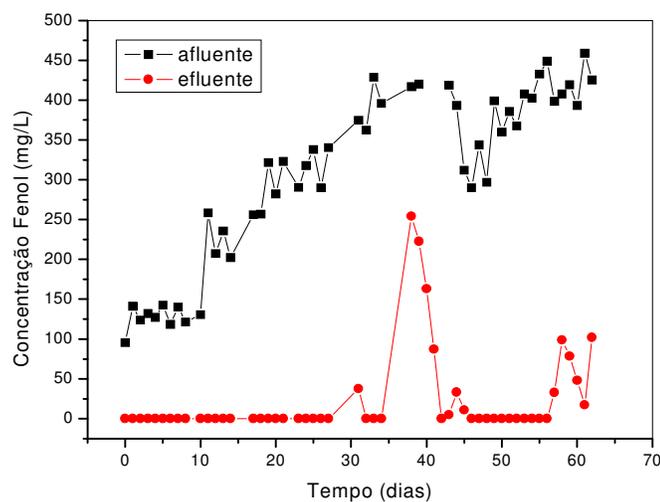


Figura 4.11 – Variação temporal da concentração de fenol para o reator preenchido com PET.

Comportamento semelhante ao reator apresentado anteriormente é visto para o reator preenchido com partículas de PET. Nota-se neste sistema uma rápida partida, mesmo sendo sujeito a uma pequena sobrecarga dada no sistema no 4º dia de operação, devido ao aumento da vazão de alimentação.

A Figura 4.12 ilustra a eficiência de degradação de fenol no reator de leito fluidizado preenchido com partículas de PET.

Pelo fato de os reatores estarem operando em paralelo os problemas que ocasionaram perda na eficiência ocorreram no mesmo tempo.

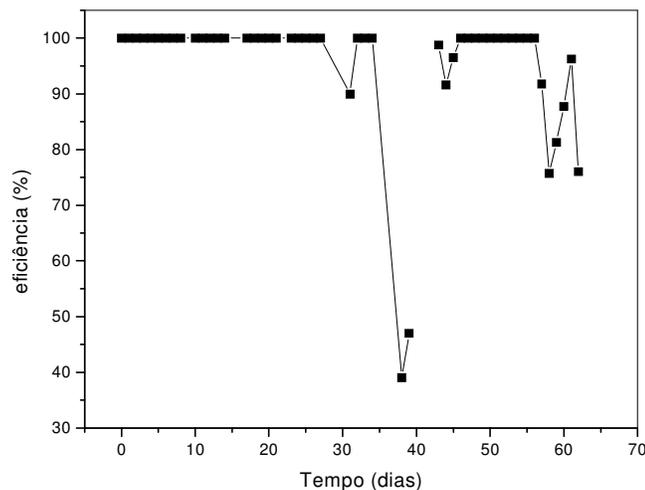


Figura 4.12 – Variação temporal da eficiência de remoção de fenol ao longo do tempo para o reator preenchido com PET.

De maneira semelhante ao reator preenchido com poliestireno, o reator preenchido com PET operou com eficiência de 100% até o 35º dia quando estava começando a receber carga de 400mg/L de fenol na alimentação. Pelo mesmo motivo, a queda brusca na eficiência no 38º dia prejudicou a estabilidade do sistema, já que este estaria recendo cargas muito altas de fenol devido ao aumento da vazão de alimentação, optando-se em deixar o sistema em recirculação, ou seja, operando em batelada.

O sistema foi reaberto no 43º dia e quando estava operando estavelmente com 400mg/L de fenol começou perder a eficiência a partir do 57º dia devido a sobrecargas aplicadas. A Tabela 4.3 mostra os resultados médios das vazões e os

respectivos TDH para cada faixa de concentração aplicada no reator, assim como a porcentagem média de remoção de fenol. Os valores médios para faixa de 400mg/L de fenol foi obtido após período de estabilização.

Tabela 4.3 - Resultados médios obtidos, para cada faixa de concentração de fenol, aplicada no reator preenchido com partículas de PET.

C fenol (mg/L)	% removida	vazão (ml/h)	TDH (h)	TDH _r (h)
100	100	36	21,4	9,2
200	100	32	24	10,4
300	99	30	25,6	11,1
400	93,5	28	27,5	11,8

* TDH: tempo de detenção hidráulico baseado na altura total do reator;

** TDH_r: tempo de detenção hidráulico baseado na altura do leito.

Da mesma forma, o TDH_r foi calculado considerando-se a altura do leito no reator, que neste caso era de 34,5 cm, e sabendo-se a área da seção transversal, temos o volume reacional deste sistema.

4.4.3 Remoção de fenol para reator preenchido com partículas de PVC

As Figuras 4.13 a 4.15, mostram os dados obtidos para a vazão de efluente, e os resultados da degradação de fenol ao longo da operação do reator.

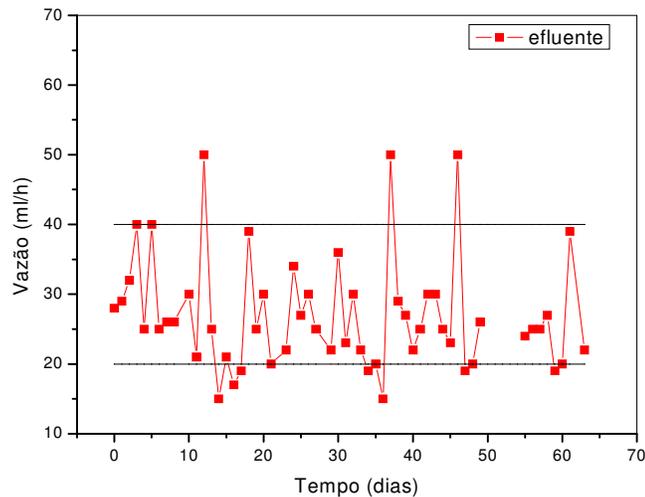


Figura 4.13 – Variação da vazão efluente ao longo do tempo para o reator preenchido com PVC.

Novamente para este sistema a partida do reator foi rápida e o estado estacionário foi atingido após três dias de operação contínua com concentração de 100 mg/L de fenol, devido à eficiência de remoção ter sido de 100 % deste o início da operação.

A Figura 4.14 mostra como variou a concentração de fenol no afluente e no efluente do reator.

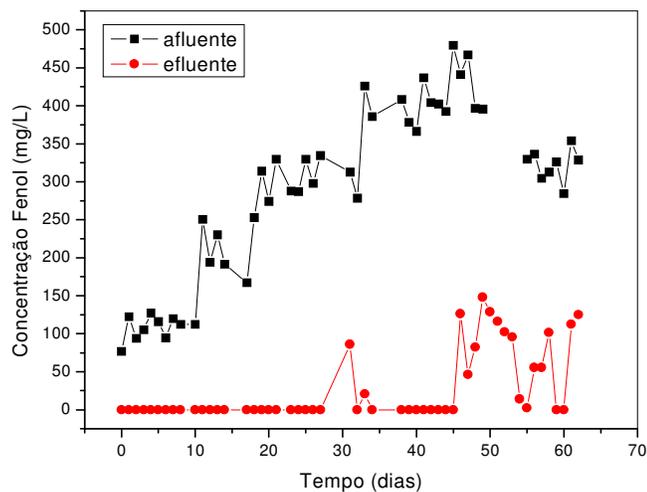


Figura 4.14 – Variação temporal da concentração de fenol para o reator preenchido com PVC.

A Figura 4.15 ilustra a eficiência de degradação de fenol no reator de leito fluidizado preenchido com partículas de PVC.

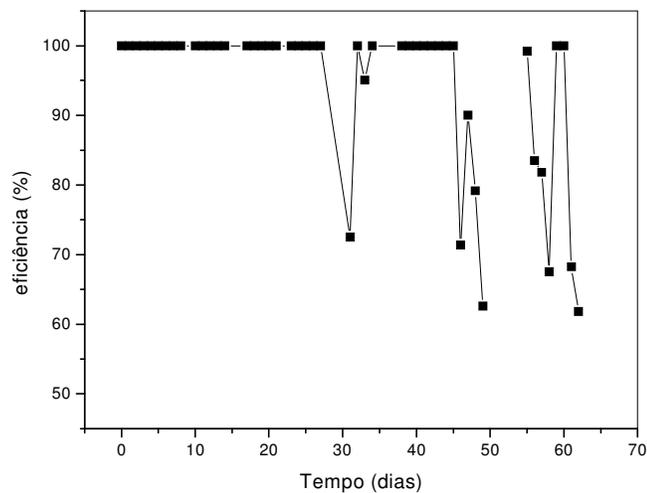


Figura 4.15 – Variação temporal da eficiência de remoção de fenol ao longo do tempo para o reator preenchido com PVC.

Neste sistema a degradação permaneceu em 100% até o 46º dia de operação, com exceção do 31º dia. No entanto a estabilidade do sistema foi recuperada dois dias depois com o reator operando com uma concentração de 400mg/L de fenol.

A perda da eficiência no 46º dia é atribuída à sobrecarga de fenol aplicada no reator devido a um aumento na vazão de alimentação. Como o sistema não estava se recuperando e a eficiência caindo, optou-se em deixar o sistema em circuito fechado até que todo o fenol fosse degradado.

Ao voltar a alimentar o sistema no 55º dia com concentração de fenol de 300mg/L, não foi observada resposta satisfatória na recuperação da eficiência do sistema. Neste período foi percebido que o reator apresentava entupimento que estava prejudicando o funcionamento da bomba de refluxo. O reator foi desobstruindo e a bomba teve o cabeçote limpo, no entanto a vazão de refluxo continuou baixa, permanecendo abaixo da vazão de mínima fluidização. A Tabela 4.4 mostra os resultados médios das vazões e respectivos TDH para cada faixa de concentração aplicada no reator, assim como a porcentagem média de remoção de fenol.

Tabela 4.4 - Resultados médios obtidos, para cada faixa de concentração de fenol, aplicada no reator preenchido com partículas de PVC.

C fenol (mg/L)	% removida	vazão (ml/h)	TDH (h)	TDH _r (h)
100	100	34,5	22,3	16,7
200	100	26	29,6	22,2
300	97,25	27	28,5	21,4
400	93	27	28,5	21,4

* TDH: tempo de detenção hidráulico baseado na altura total do reator;

** TDH_r: tempo de detenção hidráulico baseado na altura do leito.

Durante a operação do reator notou-se que as partículas de PVC estavam aumentando de tamanho e posteriormente começaram a se deformar. Devido a isto, a partir do 10º dia de operação, a altura do leito aumentou de 43,5 cm para 60 cm, aumentando o volume reacional do sistema, conseqüentemente aumentando o TDH.

O aumento de tamanho e a deformação das partículas provocou empacotamento do leito e conseqüentemente queda na vazão de recirculação, ocasionado perda da eficiência. A Figura 4.16 a 4.18, mostram as partículas utilizadas como suporte antes e depois da operação dos reatores.

Em todos os sistemas nota-se que variações no TDH, devido a oscilações nas bombas, não afetou a eficiência até a fase na qual os reatores estavam operando com concentrações próximas a 400mg/L de fenol. No entanto, com o aumento da carga para valores pouco acima de 400mg/L, o sistema passou a operar com instabilidade devido a tais oscilações.

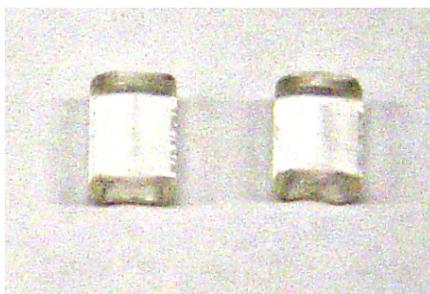


Figura 4.16 – Partículas de poliestireno depois e antes da operação do reator.

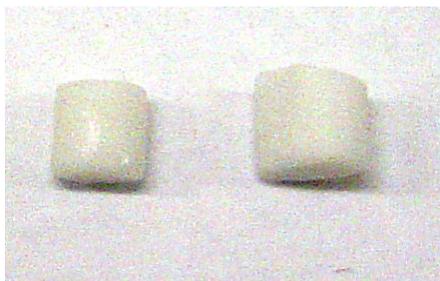


Figura 4.17 - Partículas de PET depois e antes da operação do reator.

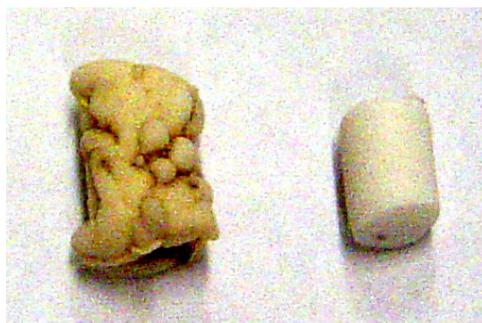


Figura 4.18 - Partículas de PVC depois e antes da operação do reator.

4.5 Análises da formação do biofilme

Os dados referentes ao crescimento da biomassa e à excreção de polímeros ao longo da operação dos reatores anaeróbios de leito fluidizado utilizando fenol como substrato são apresentados nas Tabelas 4.5 a 4.7.

Caracterização microbiológica do biofilme através de microscopia eletrônica de varredura, com amostras preparadas de acordo com o item 3.9.1, estão ilustradas nas Figuras 4.21 a 4.29 do item 4.5.4 e foram retiradas no mesmo dia das amostras retiradas para análises de polímeros extracelulares.

Tabela 4.5 – Dados referentes ao crescimento da biomassa e à excreção de polímeros para o reator preenchido com partículas de PVC.

Dia	g SVT/g part	mg Carb/g part	mg Carb/g SVT	mg Prot/g part	mg Prot/g SVT
10	0,000278	0,2278	820,8	0,0715	257,47
18	0,000205	0,2244	1095,39	0,0456	222,51
32	0,000648	0,1911	295,00	0,0621	95,87
48	0,00055	0,1562	283,97	0,0638	115,9
55	0,000719	0,1814	252,23	0,0473	65,83

Tabela 4.6 – Dados referentes ao crescimento da biomassa e à excreção de polímeros para o reator preenchido com partículas de PET.

Dia	g SVT/g part	mg Carb/g part	mg Carb/g SVT	mg Prot/g part	mg Prot/g SVT
10	0,00073	0,0899	123,2	0,024	32,93
18	0,000235	0,0967	410,95	0,0235	100
32	0,0004	0,0832	208,3	0,0238	59,59
48	0,000267	0,0579	217,3	0,0216	81,17
55	0,000517	0,0691	133,74	0,0225	43,54

Tabela 4.7 – Dados referentes ao crescimento da biomassa e à excreção de polímeros para o reator preenchido com partículas de poliestireno.

Dia	g SVT/g part	mg Carb/g part	mg Carb/g SVT	mg Prot/g part	mg Prot/g SVT
10	0,000659	0,0871	132,11	0,0259	39,33
18	0,000275	0,0804	292,63	0,0206	74,76
32	0,000273	0,0854	312,34	0,0263	96,31
48	0,000321	0,0878	273,4	0,0231	71,79
55	0,000577	0,0803	139,01	0,0204	35,37

De posse dos valores apresentados nas Tabelas 4.5 a 4.7, gráficos referentes à colonização das partículas poliméricas foram construídos e apresentados na Figura 4.19 do item 4.5.1, Figuras 4.20 e 4.21 do item 4.5.2 e Figuras 4.22 e 4.23 do item 4.5.3. Para fins de comparação os valores de cada parâmetro foram colocados nos mesmos gráficos.

4.5.1 Quantificação da biomassa aderida

A Figura 4.19 ilustra os resultados obtidos da quantidade de biomassa aderida em relação à massa de partícula coletada. Nota-se um comportamento semelhante nos três reatores estudados. A queda inicial da massa de SVT por grama de partícula pode ser explicada pelo fato dos reatores terem operado em circuito fechado durante certo tempo antes da abertura dos sistemas, favorecendo a aderência inicial.

Após esse período houve um crescimento da biomassa aderida, sendo esta relativamente maior para as partículas de PVC. Devido à deformação das partículas de PVC, foi observado um aumento da rugosidade superficial dessas partículas, sendo esta a possível causa da maior quantidade de biomassa aderida, que podia ser vista a olho nu. Nos casos das partículas de PET e poliestireno, tal observação não foi possível.

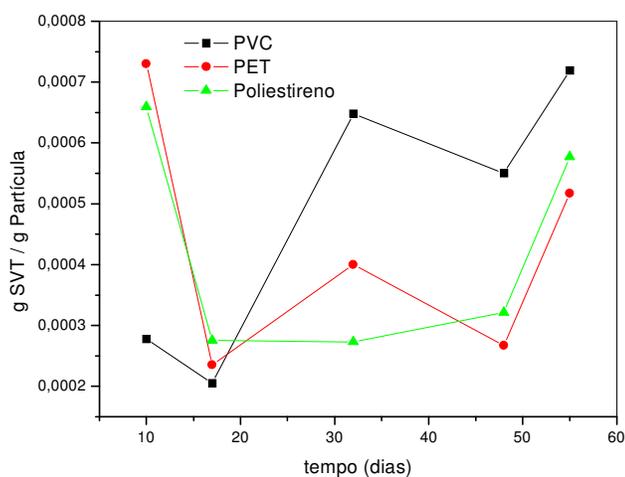


Figura 4.19 – Crescimento da biomassa aderida ao longo do tempo nas partículas poliméricas.

4.5.2 Quantificação dos polímeros extracelulares em relação à biomassa aderida.

De maneira análoga ao procedimento utilizado para quantificação da biomassa aderida às partículas poliméricas, foram construídos gráficos referentes à excreção de polímeros na forma de carboidratos e proteínas. Os gráficos de excreção de polímeros na forma de carboidratos e proteínas ao longo do tempo estão representados pelas Figuras 4.20 e 4.21.

Comparando-se os gráficos verifica-se comportamento similar em relação à quantidade de carboidratos e proteínas por massa de SVT ao longo do tempo. Inicialmente é observada uma maior quantidade de polímeros extracelulares aderidos nas partículas de PVC, diminuindo ao longo do tempo até se estabilizar. Para as demais partículas um comportamento praticamente estável é visto ao longo da operação dos reatores.

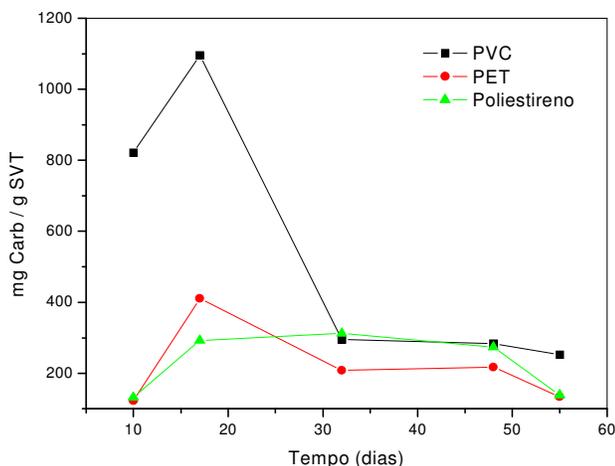


Figura 4.20 – Massa de polímeros na forma de carboidratos por grama de SVT, ao longo do tempo, para as diferentes partículas estudadas.

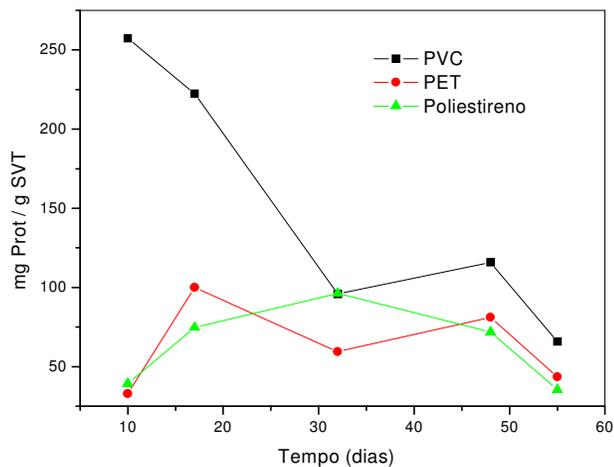


Figura 4.21 - Massa de polímeros na forma de proteínas por grama de SVT, ao longo do tempo, para as diferentes partículas estudadas.

4.5.3 Quantificação dos polímeros extracelulares em relação às partículas poliméricas

De maneira análoga ao procedimento utilizado para a determinação da produção de polímeros por massa de SVT, foram construídos gráficos referentes à excreção de polímeros na forma de carboidratos e proteínas por grama de partícula ao longo do tempo. Os gráficos são apresentados pelas Figuras 4.22 e 4.23.

Nota-se claramente, em ambos os gráficos uma maior quantidade de polímeros extracelulares aderidos nas partículas de PVC ao longo da operação dos reatores. Em relação aos reatores preenchidos com PET e poliestireno, pode-se dizer que não houve variação das quantidades de polímeros extracelulares aderidos nos suportes e que nos dois casos elas estiveram bem próximas.

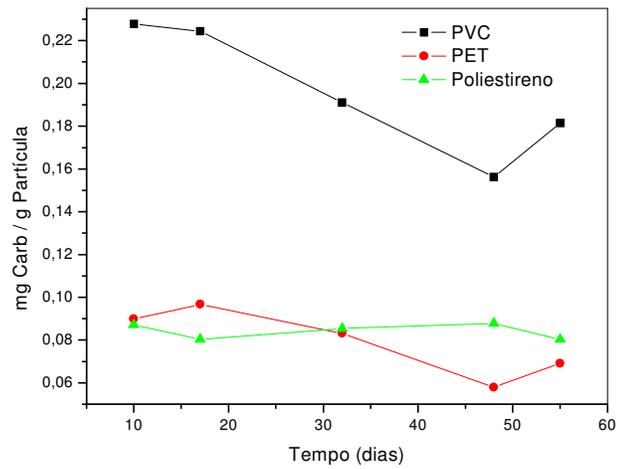


Figura 4.22 – Massa de polímeros na forma de carboidratos por grama de partícula, ao longo do tempo, para as diferentes suportes poliméricos estudados.

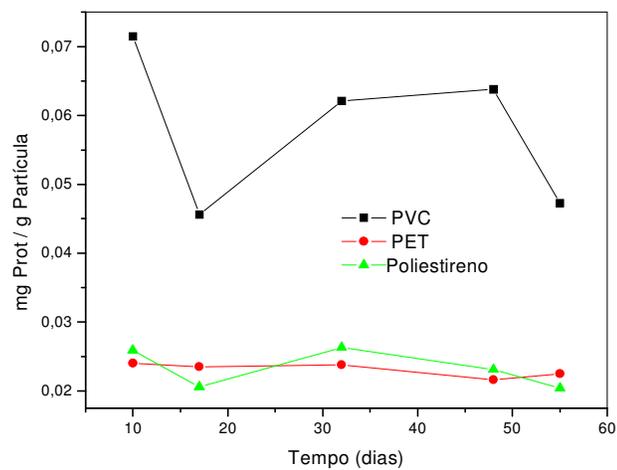


Figura 4.23 – Massa de polímeros na forma de proteínas por grama de partícula, ao longo do tempo, para as diferentes suportes poliméricos estudados.

Com base nos resultados apresentados nos graficamente pelas Figuras 4.19 a 4.23, nota-se que a formação do biofilme nas partículas de PVC foi superior comparado as demais partículas. Provavelmente, isso se deu devido à deformação que estas partículas sofreram no tratamento de água residuária contendo fenol. Tal deformação, que pode ser vista na Figura 4.18, prejudicou o desempenho do reator, ocasionando empacotamento do leito e aumento do TDH_r , já as Figuras 4.16 e 4.17 mostram que as demais partículas não sofreram deformação.

Ao analisarmos as Tabelas 4.2, 4.3 e 4.4, relacionando a porcentagem de remoção de fenol, TDH e TDH_r , assim como a estabilidade e robustez do sistema, verifica-se que o reator preenchido com partículas de PET foi o que apresentou melhor desempenho que os demais, visto que este operou com menor TDH_r para todas as fases e ainda obteve maior porcentagem de remoção de fenol. Assim pode-se afirmar que as partículas de PET foi o melhor material suporte, comparado ao poliestireno e PVC, para as condições de operação descritas neste trabalho.

4.5.4 Caracterização microbiológica do biofilme anaeróbio

A caracterização microbiológica do biofilme foi realizada periodicamente através de análises de microscopia eletrônica de varredura. As amostras foram obtidas no mesmo dia das amostras para análises de polímeros extracelulares. As Figuras 4.24 a 4.32 mostram a presença majoritária de bacilos retos, ovalados, espiralados, víbrios e cocos. Observa-se também a presença de morfologias semelhantes a *Methanosaeta sp.*, e algumas morfologias anômalas, além da presença de carapaças de protozoários nas partículas de PVC.

Nota-se a maior quantidade de polímeros extracelulares presentes nas partículas de PVC, contribuindo para a formação de uma extensa rede de microrganismos unidos uns aos outros, ligados através desses polímeros. Isto pode ser visto em todas as amostras. Em relação às amostras de partículas de PET, observa-se uma quantidade menor de polímeros extracelulares, assim como nas partículas de poliestireno, onde a fixação dos microrganismos se deu preferencialmente nas bases das partículas. Esses resultados comprovam os resultados obtidos nas análises de polímeros extracelulares quantificados na forma de carboidratos e proteínas.

4.5.4.1 Amostras de partículas do 10º dia de operação

Observando-se a Figura 4.24, pode notar uma camada de biofilme e polímeros extracelulares bem formados e desenvolvidos já no 10º dia de operação, com predominância de bacilos e algumas morfologias anômalas.

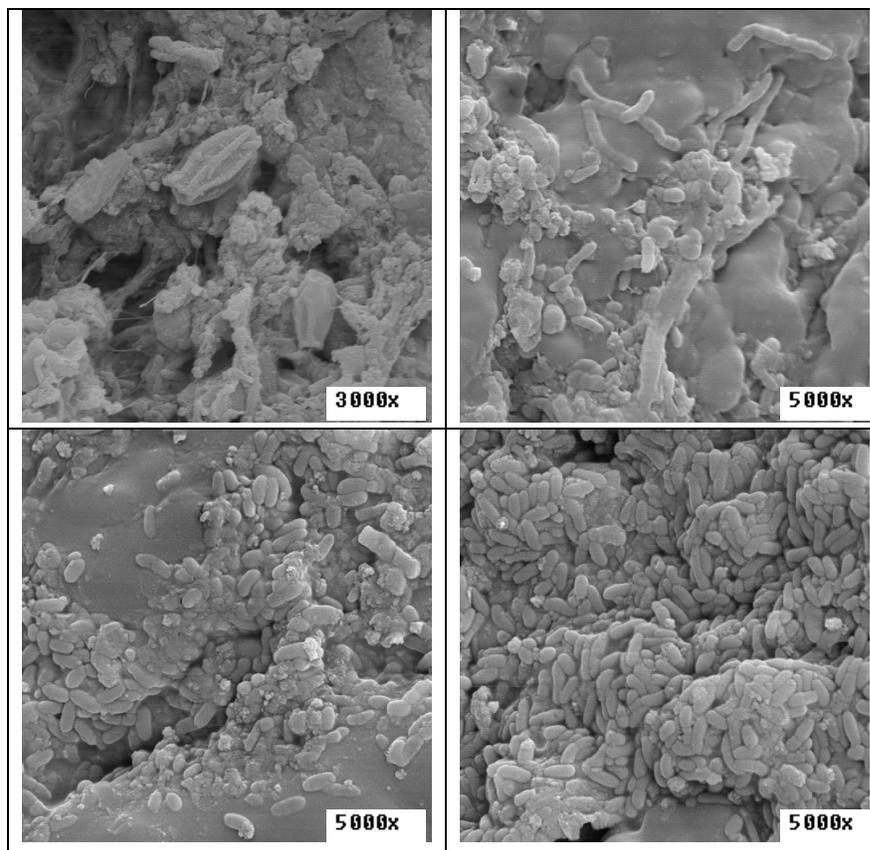


Figura 4.24 – MEV realizada nas partículas de PVC no 10º dia de operação.

Nas Figuras 4.25 e 4.26, nota-se que a colonização se deu de forma irregular, não formando grandes agregados. Pode-se observar a presença de bacilos e morfologias semelhantes a *Methanosaeta sp*, em ambas as figuras.

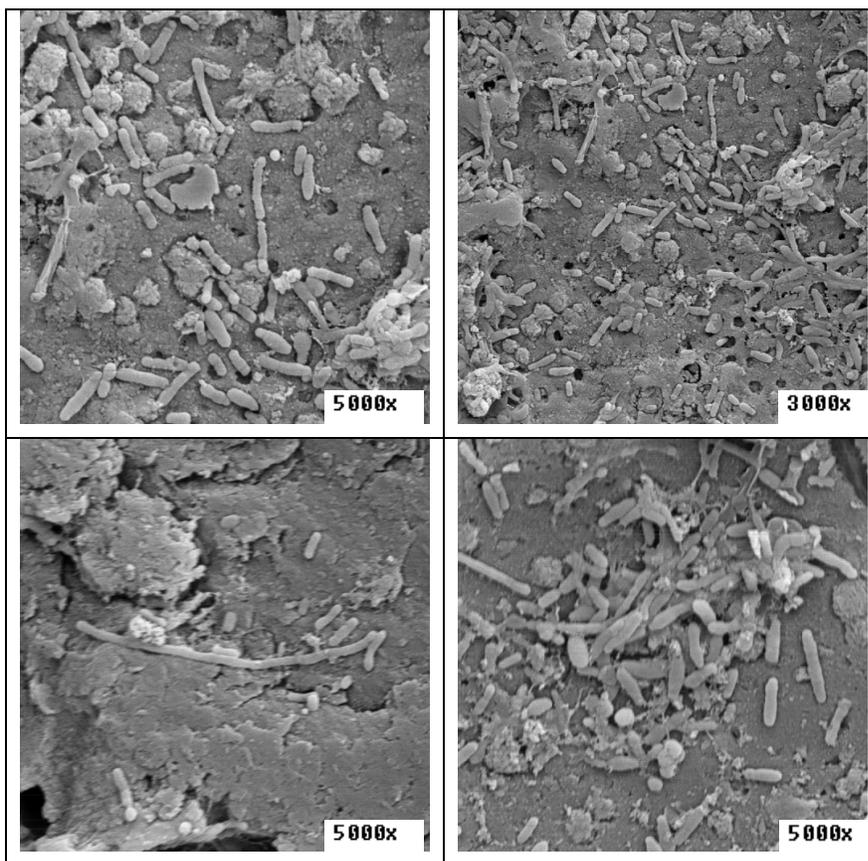


Figura 4.25 – MEV realizada nas partículas de PET no 10^o dia de operação.

Na Figura 4.26, relacionada às partículas de poliestireno foi verificado que a colonização se deu preferencialmente nas bases das partículas.

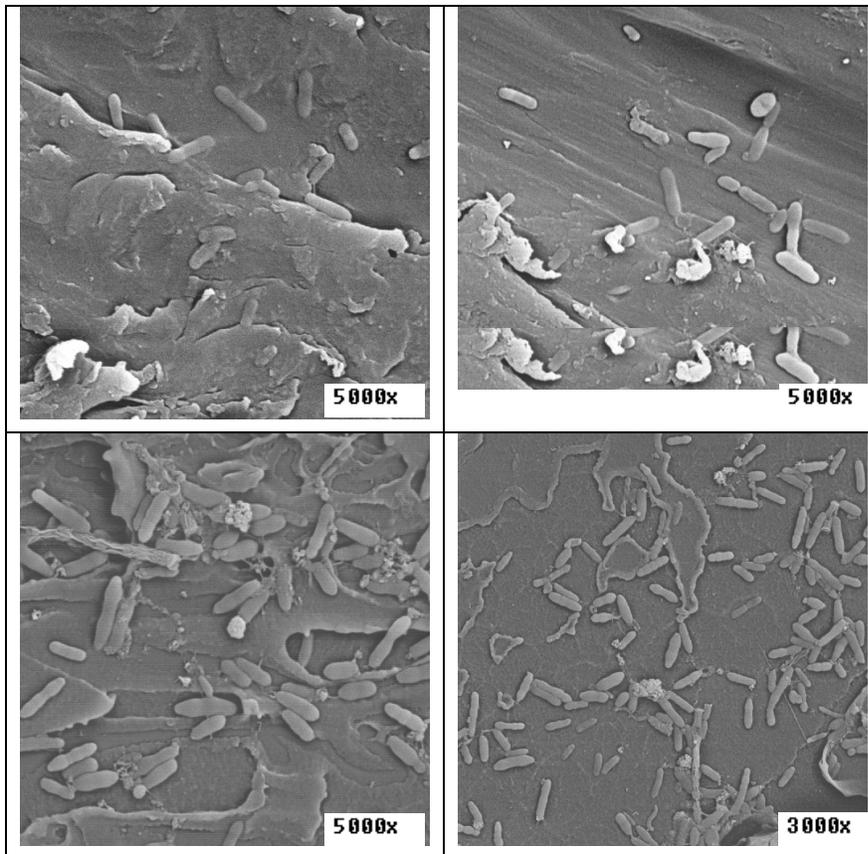


Figura 4.26 – MEV realizada nas partículas de poliestireno no 10^o dia de operação.

4.5.4.2 Amostras de partículas do 32º dia operação

A Figura 4.27 mostra colonização da partícula de PVC em forma de agregado, formando uma grande rede polimérica. Observa-se presença majoritária de bacilos e algumas morfologias anômalas, além da presença de morfologias semelhantes a arqueas metanogênicas. É possível a presença de outras morfologias sob a camada de polímeros.

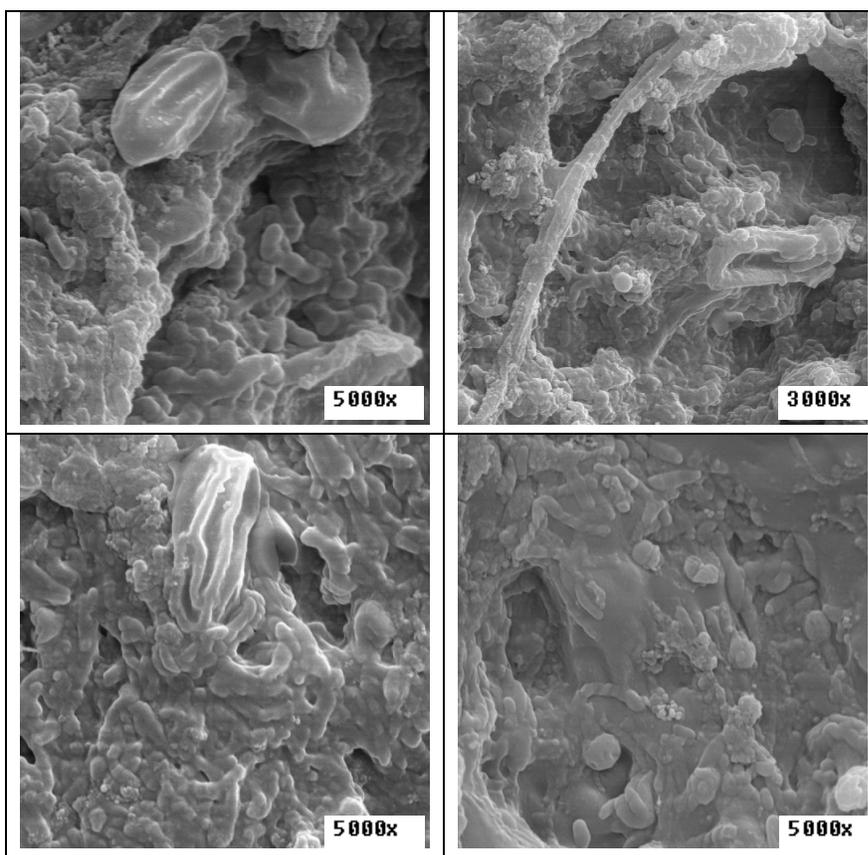


Figura 4.27 – MEV realizada nas partículas de PVC no 32º dia de operação.

A Figura 4.28 mostra a colonização irregular da partícula de PET, com baixa formação de polímeros extracelulares, observa-se a presença de bacilos.

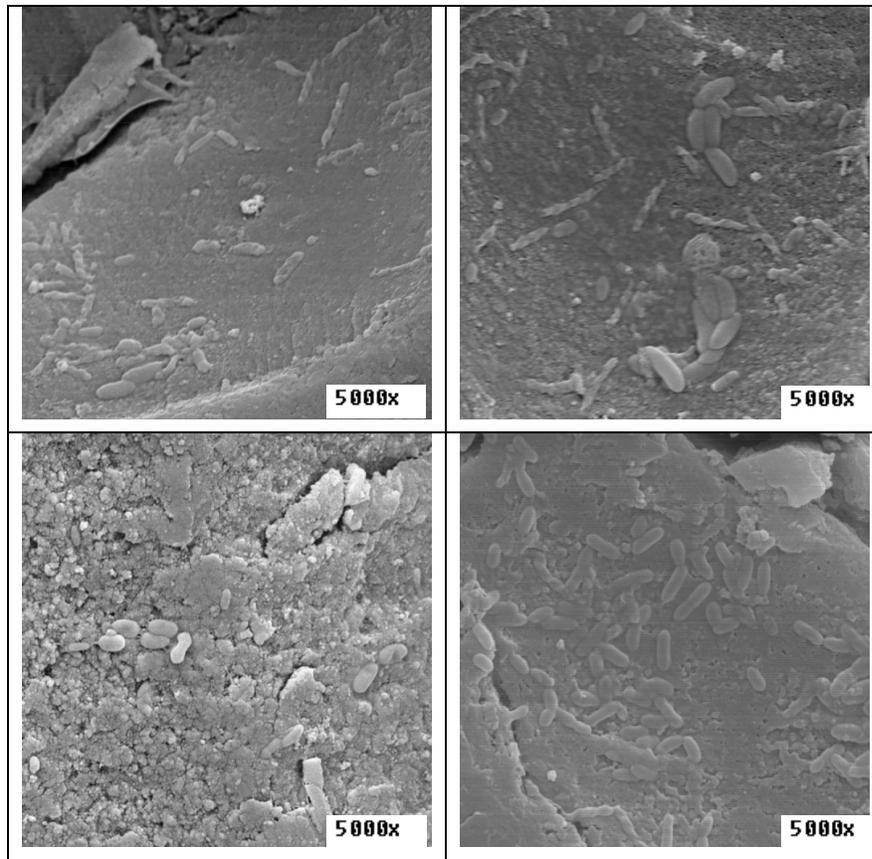


Figura 4.28 – MEV realizada nas partículas de PET no 32º dia de operação.

A Figura 4.29 mostra a colonização microbiana nas partículas de poliestireno, pode-se observar a predominância de bacilos e morfologias semelhantes a *Methanosaeta sp.*

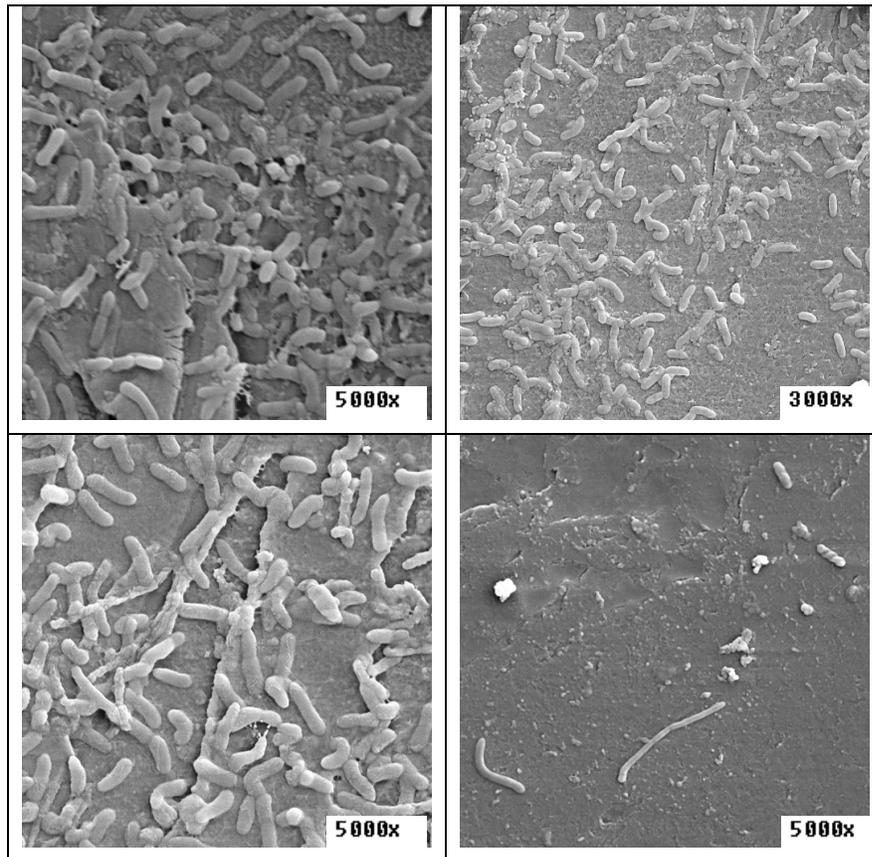


Figura 4.29 – MEV realizada nas partículas de poliestireno no 32^o dia de operação.

4.5.4.3 Amostras de partículas do 55º dia operação

Comparando-se as Figuras 4.24 e 4.27 com a Figura 4.30, nota-se uma diminuição do material polimérico formado nas partículas de PVC, isto pode ser visto também nas análises de quantificação de polímeros. Bacilos e morfologias semelhantes a *Methanosaeta sp.* estão presentes nesta figura.

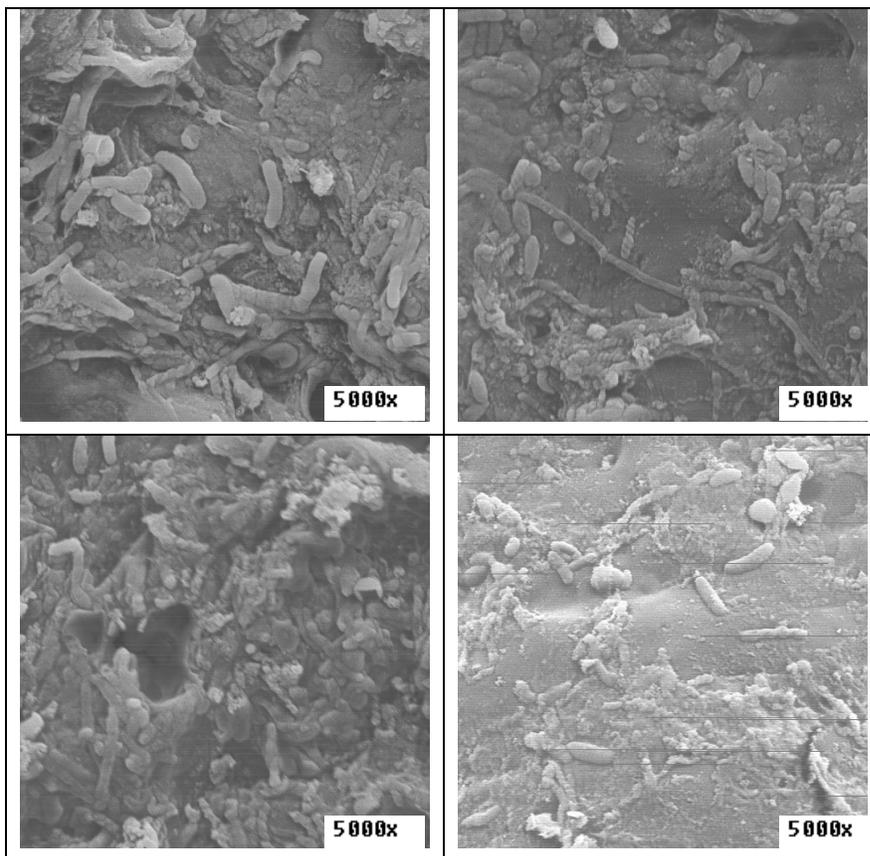


Figura 4.30 – MEV realizada nas partículas de PVC no 55º dia de operação.

A Figura 4.31 mostra uma evolução do biofilme em termos de colonização e formação de polímeros nas partículas de PET, observa-se a presença de bacilos e morfologias semelhantes a *Methanosaeta sp.* na forma de agregados.

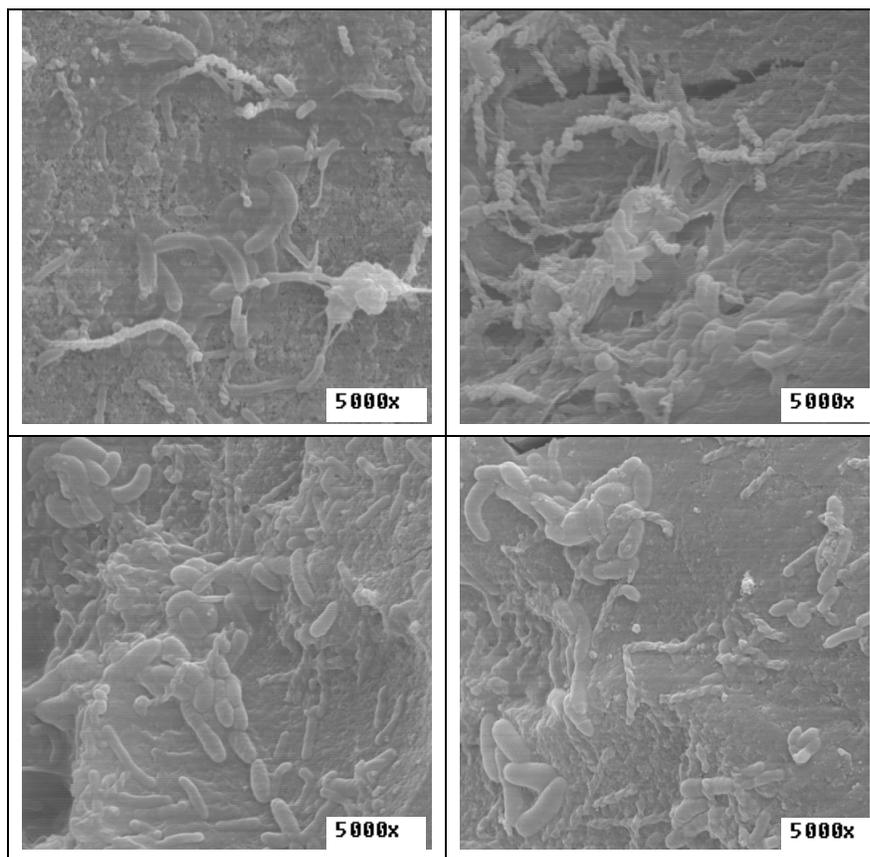


Figura 4.31 – MEV realizada nas partículas de PET no 55^o dia de operação.

A Figura 4.32 mostra que para as partículas de poliestireno houve também uma evolução do biofilme, sendo observado a presença predominante de bacilos.

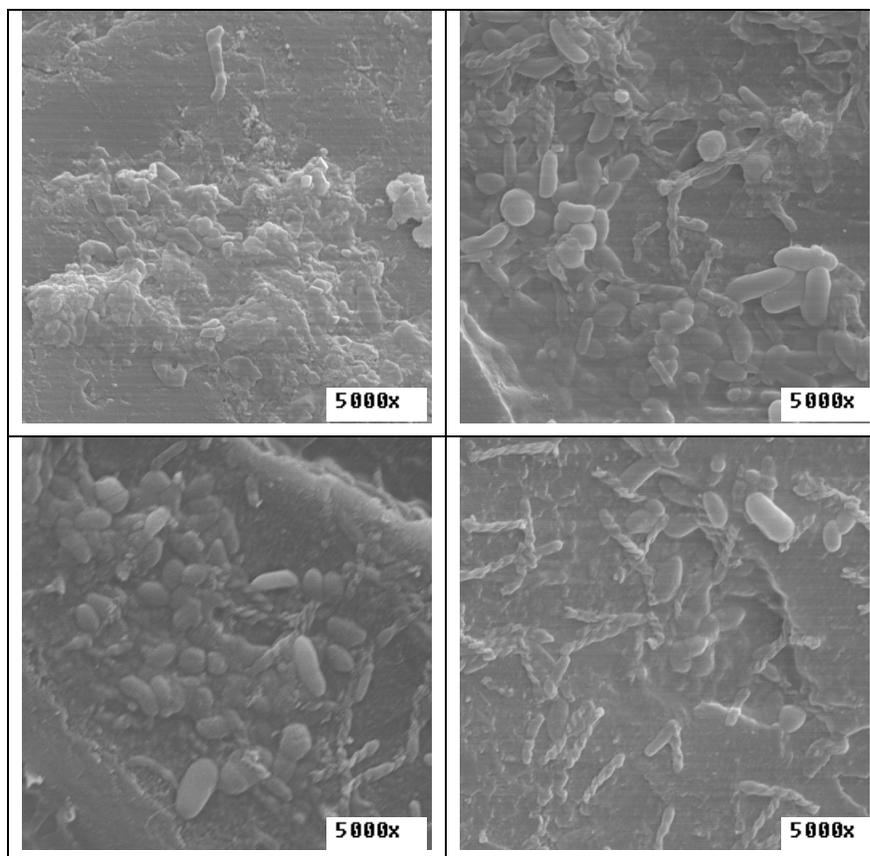


Figura 4.32 – MEV realizada nas partículas de poliestireno no 55^o dia de operação.

4.5 Demais parâmetros monitorados

As Figuras 4.33 a 4.38 mostram os resultados obtidos para a variação da concentração de DQO afluente e efluente, assim como a eficiência de redução de DQO, para os reatores anaeróbios de leito fluidizado preenchido com os diferentes materiais suportes.

Os resultados obtidos para redução de DQO mostram desempenho satisfatório dos reatores com o aumento da concentração de fenol alimentado. As eficiências médias de redução para cada faixa de concentração de fenol aplicada na alimentação estão expostas na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 – Porcentagem média de DQO removida para cada concentração de fenol aplicada.

C fenol (mg/L)	% média removida de DQO		
	poliestireno	PET	PVC
100	78,6	85,8	77,7
200	88,9	88,3	90,9
300	87,1	91,1	89,9
400	81	89,5	90,6

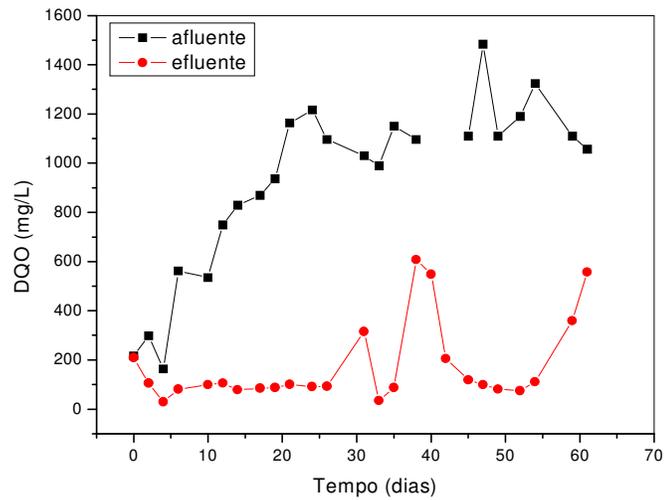


Figura 4.33 – Variação da DQO em função do tempo para o reator preenchido com poliestireno.

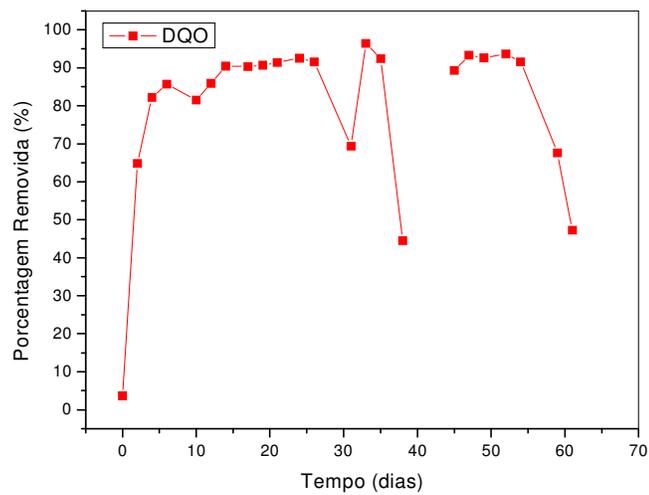


Figura 4.34 – Variação temporal da eficiência de redução de DQO para o reator preenchido com poliestireno.

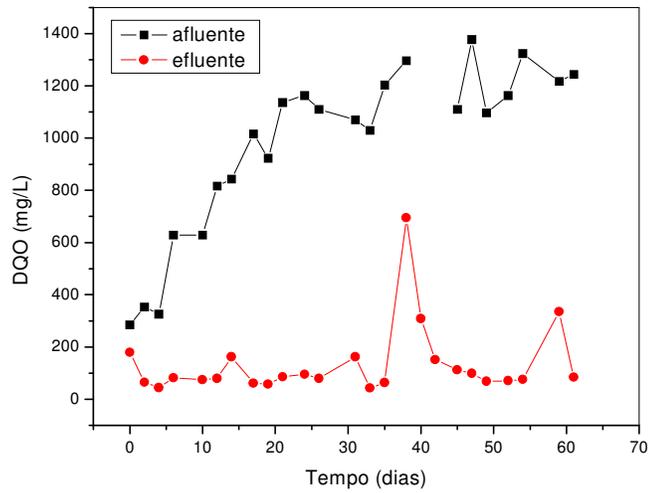


Figura 4.35 – Variação da DQO em função do tempo para o reator preenchido com PET.

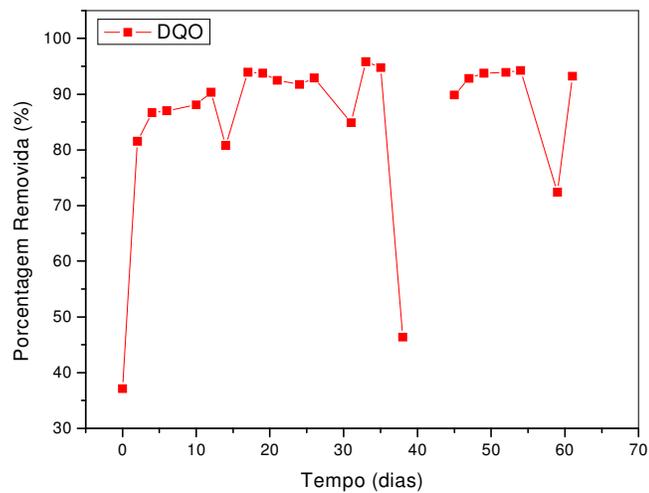


Figura 4.36 – Variação temporal da eficiência de redução de DQO para o reator preenchido com PET.

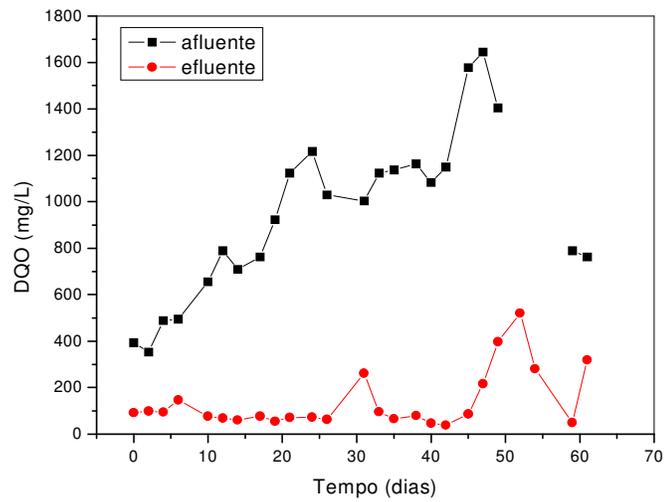


Figura 4.37 – Variação da DQO em função do tempo para o reator preenchido com PVC.

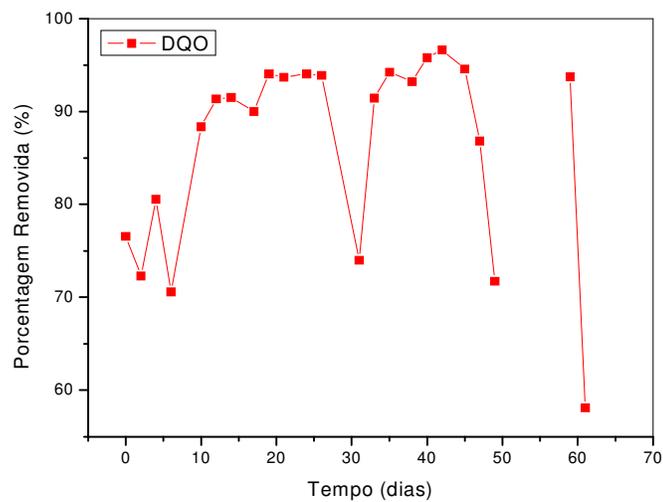


Figura 4.38 – Variação temporal da eficiência de redução de DQO para o reator preenchido com PVC.

As Figuras 4.39 a 4.41 mostram os valores medidos para o pH afluente e efluente dos reatores anaeróbios de leito fluidizado ao longo do tempo de operação.

Os valores obtidos mostram que o pH se manteve estável para todos os sistemas, dentro da faixa de operação de sistemas anaeróbios, entre 6,5 e 8,3. Nota-se mudança no comportamento nos períodos nos quais os reatores ficaram em recirculação.

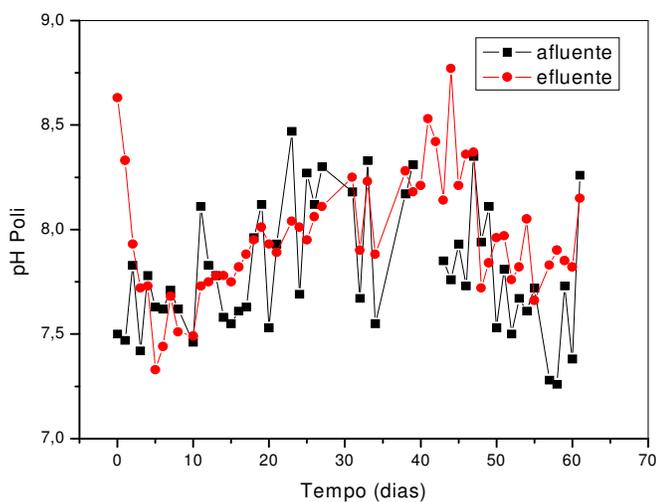


Figura 4.39 – Variação do pH com o tempo para o reator preenchido com poliestireno.

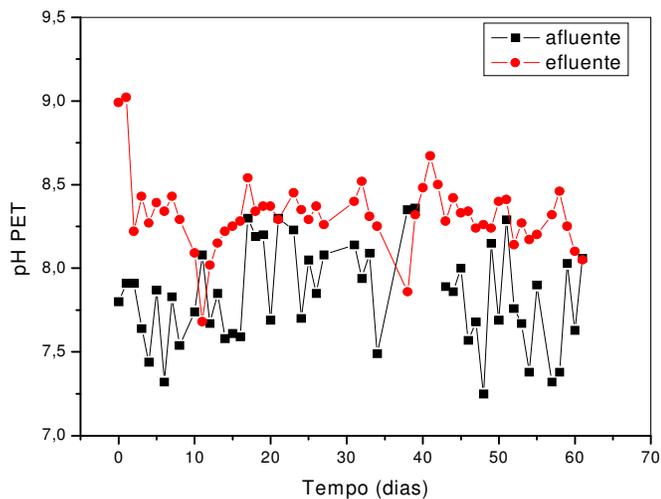


Figura 4.40 - Variação do pH com o tempo para o reator preenchido com PET.

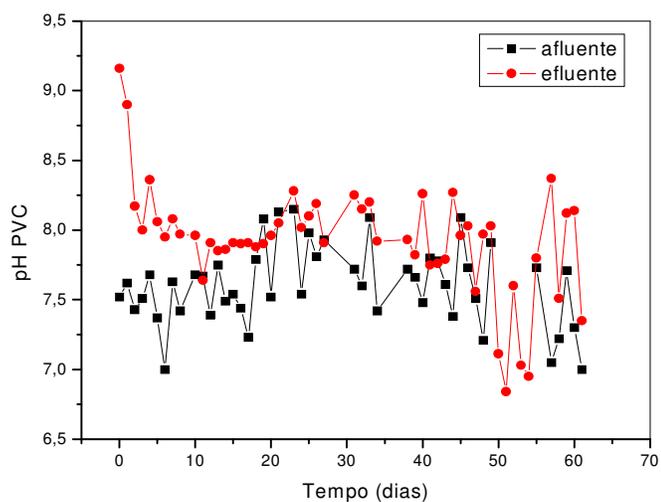


Figura 4.41 - Variação do pH com o tempo para o reator preenchido com PVC.

As Figuras 4.42 a 4.44 mostram os resultados obtidos no monitoramento da variação da alcalinidade a bicarbonato para os reatores anaeróbios de leito fluidizado.

Os dados obtidos mostram que em todos os casos houve uma queda na concentração de alcalinidade a bicarbonato no início de operação dos sistemas, a partir do 10^o dia de operação houve um aumento gradativo até a estabilização que se manteve durante todo o período de operação, mesmo com os problemas ocasionados.

A Tabela 4.9 apresenta os valores médios obtidos para a alcalinidade a bicarbonato no afluente e no efluente dos reatores anaeróbios de leito fluidizado a partir do 10^o dia de operação.

Tabela 4.9 - Valores médios obtidos para alcalinidade a bicarbonato nos reatores.

RALF	Afluente (mg/L)	Efluente (mg/L)
Poliestireno	422	367
PET	406	384
PVC	390	381

Analisando os valores não se pode dizer se houve ou não geração de alcalinidade a bicarbonato, comparando-se os afluentes e os efluentes. No entanto, em média, os valores de alcalinidade a bicarbonato estiveram maior no afluente dos reatores, o que não é um bom resultado, podendo ser provável ocorrência de ácidos voláteis até o período monitorado.

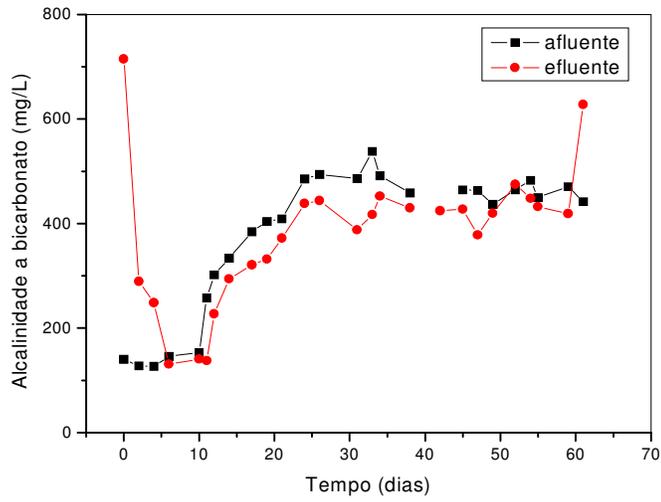


Figura 4.42 – Variação da alcalinidade a bicarbonato com o tempo para o reator preenchido com poliestireno.

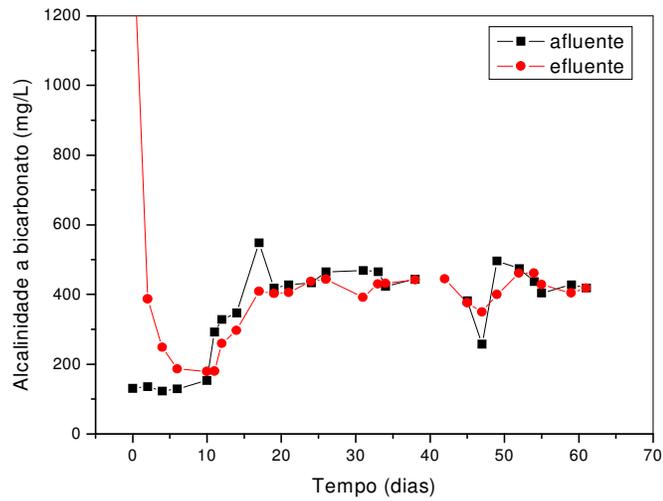


Figura 4.43 – Variação da alcalinidade a bicarbonato com o tempo para o reator preenchido com PET.

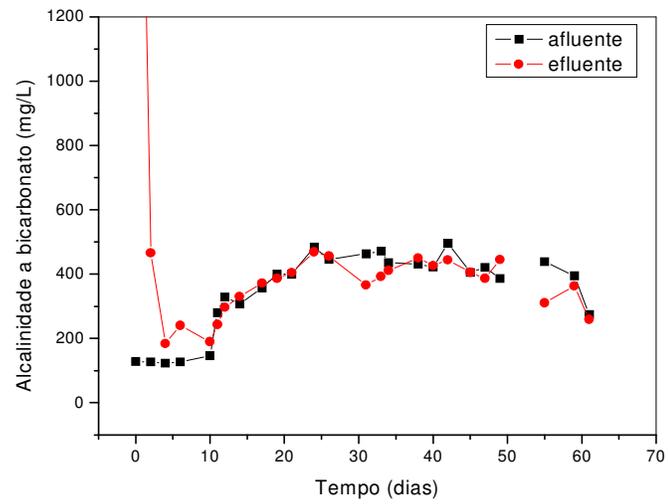


Figura 4.44 – Variação da alcalinidade a bicarbonato com o tempo para o reator preenchido com PVC.

CAPÍTULO 5

5.1 Conclusões

A partir dos resultados obtidos e da discussão apresentada pode-se concluir que os objetivos para este trabalho foram alcançados com relação à avaliação de diferentes partículas poliméricas, empregadas como material suporte, na degradação de fenol em reatores anaeróbios de leito fluidizado. Deste modo, as conclusões obtidas durante a realização deste trabalho foram:

- a) A prévia adaptação do lodo que trata resíduo de suinocultura a degradação do fenol permitiu que a partida dos reatores fosse rápida. Diferentemente do trabalho de Sancinetti (2004), o inóculo utilizado foi retirado diretamente dos ensaios de adaptação em *shakers* e usado para inocular os reatores, sendo mais favorável neste caso;
- b) As morfologias (bacilos, víbrios, bacilos fluorescentes, cocos e morfologias semelhantes a *Methanosaeta sp.* e *Methanosarcina sp.*) encontradas durante a adaptação do inóculo estão coerentes com as encontradas por outros pesquisadores;
- c) As análises para quantificação de biofilmes, em termos de proteínas e carboidratos, mostraram-se aplicáveis para quantificar a produção de

exopolímeros em reatores anaeróbios de leito fluidizado preenchido com partículas poliméricas;

- d) Mesmo com o inóculo adaptado observou-se claramente inibição das bactérias ao mudar as condições de ensaios bateladas para as novas condições no reator;
- e) Durante a fase em circuito fechado houve a necessidade de se corrigir o pH nos reatores, utilizando-se ácido sulfúrico;
- f) Todos os reatores operaram com eficiência de remoção de 100% de fenol com cargas até 400mg/L, mesmo quando submetidos a sobrecargas. Ao se aplicar cargas superiores a essa houve queda na eficiência de remoção;
- g) Oscilações na vazão de alimentação, observadas nos dias 36, 37 e 38 nos reatores com partículas de poliestireno e PET, e no dia 46 para o reator preenchido com PVC, comprometeram no desempenho dos reatores quando operados com carga acima de 400mg/L de fenol;
- h) As amostras de partículas de PVC mostraram quantidade aderida de polímeros extracelulares inicial superior as partículas de PET e poliestireno, igualando-se ao longo do ciclo de operação. Em termos de carboidrato por grama de SVT, o reator com PVC apresentou valor inicial de 1000 mg Carb/g SVT, já os reatores com PET e poliestireno apresentaram valores iniciais de 100 mg

Carb/g SVT, igualando-se todos a 200 mg Carb/g SVT no final do ciclo de operação;

- i) Em termos de proteínas o reator com PVC apresentou valor inicial de 250 mg Prot/g SVT, e os reatores com PET e poliestireno apresentou valores iniciais de 30 mg Prot/g SVT, igualando-se todos próximos a 50 mg Prot/g SVT no final do ciclo de operação;
- j) A relação massa de polímeros por grama de partículas foi maior para as partículas de PVC. Em termos de carboidratos essa massa variou de 0,23 a 0,16 mgCarb/gpartícula para as partículas de PVC e para as demais partículas variou de 0,09 a 0,06 mgCarb/gpartícula. Em termos de proteínas a variação foi de 0,07 a 0,05 mgProt/gpartícula para partículas de PVC e para as demais partículas a massa variou de 0,02 a 0,03 mgProt/gpartícula;
- k) Devido à deformação as partículas de PVC obtiveram maior rugosidade que as demais partículas estudadas, favorecendo a adesão microbiana, no entanto, o reator preenchido com partículas de PET apresentou melhores resultados na degradação do fenol, em média 98%, operando com TDH_r médio de 10,6 h, enquanto o reator preenchido com poliestireno operou com TDH_r médio de 22 h e remoção média de 97% e o reator preenchido com PVC operou com TDH_r médio de 20,4 h e remoção média de 97,5%;

- l) Análises de microscopia eletrônica de varredura indicaram a presença predominante de bacilos retos, ovalados, espiralados, vibrios e cocos, além da presença de morfologias semelhantes a *methanosaeta sp*, e algumas morfologias anômalas;
- m) As análises de MEV mostraram que nas partículas de PVC a adesão microbiana inicial foi maior, assim com a produção de exopolímeros;
- n) A eficiência média de redução de DQO, para as concentrações de 100mg/L, 200mg/L, 300mg/L e 400mg/L de fenol aplicada nos reatores foi de 78,6%, 88,9%, 87,1% e 81% no reator com poliestireno, 85,8%, 88,3%, 91,1% e 89,5% no reator com PET e 77,7%, 90,9%, 89,9% e 90,6% no reator com PVC, respectivamente;
- o) O pH se manteve estável, ficando dentro da faixa desejada, de 6,5 a 8,5, para sistemas anaeróbios em todos os reatores estudados;
- p) Em média, os valores de alcalinidade a bicarbonato estiveram maior no afluente dos reatores, o que não é um bom resultado, podendo ser provável ocorrência de ácidos voláteis. No reator com poliestireno a média foi de 422mg/L no afluente e 367mg/L no efluente, no reator com PET a média foi de 406mg/L no afluente e 384mg/L no efluente e no reator com PVC a média foi de 390mg/L no afluente e 38mg/L no efluente.

5.2 Sugestões

Para dar continuidade no estudo da degradação do fenol em reatores anaeróbios de leito fluidizado, utilizando diferentes materiais suportes, sugere-se:

- a) Trabalhar com escala de reator maior que a usada neste trabalho, para que se possa ter melhor controle do TDH e conseqüentemente melhor controle dos processos;
- b) Aplicar maiores concentrações de fenol aos reatores, uma vez que para as condições adotadas, o desempenho foi satisfatório para concentrações de até 400mg/L.
- c) Operar os reatores por um período de tempo maior;
- d) Avaliar o desempenho dos reatores diminuindo o tempo de detenção hidráulico;
- e) Testar outros tipos de partículas poliméricas como suportes para reatores anaeróbios de leito fluidizado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA (American Public Health). *Standard Methods for the Examination for Water and Wastewater*. 17th ed. New York. 1995.

BERGAMASCO, R. Uso de partículas poliméricas para a adesão microbiana em tratamento biológico de resíduos. Tese (Doutorado), Campinas. UNICAMP, 1996.

BERTOLLO, F.B. Avaliação do reator de leito fluidizado com tubo draft na biodegradação de fenol. Tese (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, 2001.

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.

BUFFIÈRE, P.; MOLETTA, R.; FONADE, C. (1995). Continuous operations of a fluidized bed bioreactor for anaerobic digestion: residence time effect on degradation kinetics. *Biotechnology Letters*, v 17, n. 8, p. 833-838.

CAMPOS, J.R.; PEREIRA, J.A.R. (1999). Reator anaeróbio de leito expandido/fluidizado. Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo. Prosab (programa de Pesquisa em Saneamento Básico), Rio de Janeiro: ABES. P. 199-219.

CHERNICHARO, C.A.L. (1997) Princípios do tratamento biológico de águas residuárias Vol 5 – reatores anaeróbios. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – DESA, UFMG, Belo Horizonte, 246p.

- COLBERG, P.J.S.; YOUNG, L.Y. (1995). Microbial transformation and degradation of toxic organic chemicals: cap 8: Anaerobic degradation of nonhalogenated homocyclic aromatic compounds coupled with nitrate, iron, or sulfate reduction. Edited by Lily Y. YOUNG, Carl E. Cerniglia, Wiley-Liss Inc. New York. 654p.
- COSTERTON, J.W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D.E.; KORBER, D.R.; LAPPIN-SCOTT, H.M. (1995). Microbial biofilms. *Annual Reviews in Microbiology*, v. 49, p. 711-745.
- COSTERTON, J.W.; LEWANDOWSKI, Z. (1997). The biofilm lifestyle. *Advances in Dental Research*, v. 11, n.1, p. 192-195.
- DENAC, M.; DUNN, I.J. (1988). Packed and fluidized bed biofilm reactor performance for anaerobic wastewater treatment. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 32, p. 159-173.
- 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*, vol. 30, n. 6, pp. 1353-1360.
- FUCHS, G.; GLÖCKLER, R.; TSCHECH, A. (1989). Reductive dehydroxylation of 4-hydroxybenzoyl-CoA to benzoyl-CoA in a denitrifying, phenol-degrading *Pseudomonas* species. *FEBS Letters*, 251 : 237-240.
- GALLERT, C.; KNOLL, G.; WINTER, J. (1991). Anaerobic carboxylation of phenol to benzoate: use of deuterated phenols revealed carboxylation exclusively in the C4-position. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 36 : 124-129.

- GALLERT, C.; WINTER, J. (1992). Comparison of 4-hydroxybenzoate decarboxylase and phenol carboxylase activities in cell-free extracts of a defined, 4-hydroxybenzoate and phenol-degrading anaerobic consortium. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 37 : 119 – 124.
- GALLERT, C.; WINTER, J. (1993). Uptake of phenol by phenol-metabolizing bacteria of a stable, strictly anaerobic consortium. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 39 : 627 – 631.
- GALLERT, C.; WINTER, J. (1994). Anaerobic degradation of 4-hydroxybenzoate: reductive dehydroxylation of 4-hydroxybenzoil-CoA and ATP formation during 4-hydroxybenzoate decarboxylation by the phenol-metabolizing bacteria of a stable, strictly anaerobic consortium. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 42 : 408 – 414.
- GONZÁLEZ, G. RAMÍREZ, F.; MONROY, O. (1992). Development of biofilms in anaerobic reactors. *Biotechnology Letters*, v. 14, n. 2, p. 149-154.
- GRADY JR., C.P.L.; LIM, H.C. (1980). Biological wastewater treatment: Theory and applications. Marcel Dekker, Inc., New York, 963p.
- HÄGGBLÖM, M. M.; RIVERA, M. D.; YOUNG, L. Y. (1993), Influence of alternative electron acceptors on the anaerobic biodegradability of chlorinated phenols and benzoic acids. *Applied and Environmental Microbiology*, 59 : 1162-1167.
- HÄGGBLÖM, M. M.; YOUNG, L.Y. (1995). Anaerobic degradation of halogenated phenols by sulfate-reducing consortia. *Applied and Environmental Microbiology*, apr., vol. 61, n. 4, p. 1546-1550.

- HÄGGBLÖM, M. M.; KNIGHT, V. K.; KERKHOF, L. J. (2000), Anaerobic decomposition of halogenated aromatic compounds. *Environmental Pollution*, 107 : 199-207.
- HANAKI, K.; SAITO, T.; MATSUO, T. (1997). Anaerobic treatment utilizing the function of activated carbon. *Water Science Technology*, v. 35, n. 8, p. 192-201.
- HECHT, V., LANGER, O.; DECKWER, W-D. (2000). Degradation of phenol and benzoic acid in a three-phase fluidized reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 70, n. 4, p. 391-399.
- HEIDER, J.; FUCHS, G. (1997). Microbial anaerobic aromatic metabolism. *Anaerobe*, 3: 1-22.
- HICKEY, R.F.; OWENS, R.W. (1981). Methane generation from thigh-strength industrial wastes with the anaerobic biological fluidized bed. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 23, p. 399-413.
- HIDALGO, M.D.; GARCÍA-ENCINA, P.A. (2002). Biofilm development and bed segregation in a methanogenic fluidized bed reactor. *Water Research*, v. 36, p. 3083-3091.
- HOLST, T.C.; TRUC, A.; PUJOL, R. (1997). Anaerobic fluidized beds: ten years of industrial experience. *Water Science and Technology*, v. 36, p. 3083-3091.
- KAZUMI, J.; HÄGGBLÖM, M. M.; YOUNG, L.Y. (1995). Degradation of monochlorinated and nonchlorinated aromatic compounds under iron-reducing conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, nov., vol. 61, n. 11, p. 4069-4073.

- KHOURY, N.; DOTT, W.; KÄMPFER, P. (1992). Anaerobic degradation of phenol in batch and continuous cultures by denitrifying bacterial consortium. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 37, pp. 524-528.
- KNOLL, G.; WINTER, J. (1987). Anaerobic degradation of phenol in sewage sludge. Benzoate formation from phenol and CO₂ in the presence of hydrogen. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 25 : 384-391.
- 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.
- KOBAYASHI, T.; HASHINAGA, T.; MIKAMI, E.; SUZUKI, T. (1989). Methanogenic degradation of phenol and benzoate in acclimated sludges. *Water Science Technology*, vol. 21, pp. 55-65.
- LAUWERS, A.M.; HEINEN, W.; GORRIS, L.G.M.; van der DRIFT, C. (1989). Variation of parameters affecting the start-up of methanogenic fluidized bed reactors. *Biotechnology Letters*, vol. 11, n. 12, p. 907-912.
- LÉPINE, F.; BISAILLON, J.-G.; MILOT, S.; KHALID, T.H.; BEUDET, R.; VILLEMUR, R. (1996). Transformation of phenol into phenylalanine by a methanogenic consortium. *Applied and Environmental Microbiology*, mar., vol. 62, n. 3, p. 809-814.
- LETTINGA, G.; FIELD, J.; VAN LIER, J.; ZEEMAN, G.; HULSHOFF POL, L.W. (1997). Advanced anaerobic wastewater treatment in the near future. *Water Science Technology*, vol. 35, n. 10, p. 5-12.

- LONDRY, K.L.; FEDORAK, P.M. (1992). Benzoic acid intermediates in the anaerobic biodegradation of phenol. *Canadian Journal Microbiology*, 38 : 1-11.
- MARTINELLI, F.R. Formação e desenvolvimento do biofilme em reator de leito fluidizado na degradação anaeróbia de fenol. Trabalho de Graduação. Departamento de Engenharia Química – UFSCar, 2003
- MENDONÇA, N.M. Caracterização do material suporte e estudo da partida de um reator anaeróbio de leito expandido utilizado no tratamento de esgoto sanitário. Tese Mestrado. Escola Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1999.
- METCALF & EDDY, INC. Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse. McGraw-Hill, Inc., 1979, 1334p.
- RESOLUÇÃO CONAMA N° 20 – “Dispõe sobre a classificação das águas doces. Salobras e salinas, em todo o território nacional, bem como determinam, os padrões de lançamento”, 1986.
- RIBEIRO, R. Influência do tipo de substrato na dinâmica de formação do biofilme em matrizes de espuma de poliuretano. São Carlos, 2001, Tese (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.
- SANCINETTI, G.P. Degradação de fenol em reator anaeróbio de leito fluidizado. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos. 2004.
- SILVA, E.L. Tratamento de fenol em reator aeróbio de leito fluidificado trifásico. São Carlos, 1995, 2v., Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

- SREEKRISHNAN, T.R.; RAMACHADRAN, K.B.; GHOSH, P. (1991). Effect of operating variables on biofilm formation and performance of an anaerobic fluidized-bed bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 37, p. 557-556.
- STRONACH, S.M.; DIAZ-BALZ, M.C.; RUDD, T.; LESTER, J.N. (1987). Factors affecting biomass attachment during start up and operation of anaerobic fluidized beds. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 30, p. 611-620.
- TAVARES, C.R.G. Tratamento aeróbio de efluentes em bioreatores de leito fluidizado trifásico. Tese (Doutorado), COPPE/UFRJ, 1992.
- TAY, J.-H., HE, Y.-X., YAN, Y.-G. (2001). Improved anaerobic degradation of phenol with supplemental glucose. *Journal of Environmental Engineering*, January, p. 38-45.
- TELH, M. Avaliação do uso do reator anaeróbio horizontal de leito fixo no tratamento de vinhaça sob condições termofílicas. São Carlos, 2001, Tese (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.
- TSCHECH, A.; FUCHS, G. (1987). Anaerobic degradation of phenol by pure cultures of newly isolated denitrifying pseudomonas. *Archives Microbiology*, v. 148, p. 213-217.
- TSCHECH, A.; FUCHS, G. (1989). Anaerobic degradation of phenol via carboxylation to 4-hydroxybenzoate: In vitro study of isotope exchange between $^{14}\text{CO}_2$ and 4-hydroxybenzoate. *Archives Microbiology*, v. 152, p. 549-599.
- VAN LOODSTRECHT, M.C.M.; LYKLEMA, J.; NORDE, W.; ZEHNDER, A.J.B. (1990). Influence of interfaces on microbial activity. *Microbial Reviews*, v. 54, p. 75-87.

- VAN LOODSTRECHT, M.C.M.; LYKLEMA, J.; NORDE, W.; SCHRAA, G.; ZEHNDER, A.J.B. (1897). Eletrophoretic mobility and hydrophobicity as a measure to predict the initial steps of bacterial adhesion. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 53, p. 1898-1901.
- VAN SCHIE, P.M.; YONG, L.Y. (1998). Isolation and characterization of phenol-degrading denitrifying bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, July, vol. 64, n. 7, p. 2432-2438.
- 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*, v. 66, n. 6, p. 794-799.

ANEXO A

Tabela A.1 – Valores de vazão de alimentação durante a operação contínua dos reatores anaeróbios de leito fluidizado preenchidos com partículas de poliestireno, PET e PVC.

Dia	vazão (ml/h)		
	poliestireno	PET	PVC
0	29	31	28
1	25	23	29
2	35	35	35
3	36	42	40
4	40	40	25
5	40	25	40
6	35	35	25
7	28	27	26
8	15	37	26
10	30	35	30
11	22	27	21
12	20	34	50
13	27	27	25
14	20	37	15
15	20	36	21
16	22	43	17
17	37	29	19
18	28	21	39
19	17	30	25
20	40	30	30
21	30	35	20
23	22	30	22
24	20	32	34
25	24	30	27
26	23	35	30
27	21	32	25
29	26	23	22
30	26	30	36
31	29	25	23
32	30	30	30
33	27	19	22
34	30	24	19
35	29	35	20
36	60	45	15
37	40	40	50
38	20	50	29

continua

continuação

39	34	31	27
40	-	-	22
41	-	-	25
42	-	-	30
43	26	20	30
44	20	25	25
45	19	27	23
46	21	23	50
47	15	20	19
48	20	26	20
49	21	32	26
50	20	34	-
51	21	23	-
52	26	25	-
53	21	27	-
54	23	31	-
55	35	30	24
56	15	26	25
57	23	30	25
58	20	36	27
59	38	20	19
60	39	21	20
61	38	32	39

Tabela A.2 – Valores da concentração de fenol e eficiência de remoção durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de poliestireno.

Dia	Concentração de fenol (mg/L)		% removida
	afluente	efluente	
0	77,57	0,00	100,00
1	110,20	0,00	100,00
2	117,54	0,00	100,00
3	123,25	0,00	100,00
4	123,25	0,00	100,00
5	134,67	0,00	100,00
6	119,17	0,00	100,00
7	138,74	0,00	100,00
8	128,14	0,00	100,00
10	103,67	0,00	100,00
11	252,94	0,00	100,00
12	203,18	0,00	100,00
13	230,10	0,00	100,00
14	193,39	0,00	100,00
17	202,37	0,00	100,00
18	252,94	0,00	100,00
19	316,56	0,00	100,00
20	273,33	0,00	100,00
21	318,19	0,00	100,00
23	306,77	0,00	100,00
24	320,44	0,00	100,00
25	327,15	0,00	100,00
26	305,34	0,00	100,00
27	333,86	0,00	100,00
31	372,45	83,05	77,70
32	324,64	0,00	100,00
33	421,11	0,00	100,00
34	349,80	0,00	100,00
38	423,62	213,49	49,60
39	421,94	230,27	45,43
40	-	184,55	-
41	-	121,63	-
42	-	31,04	-
43	391,75	53,27	86,40
44	371,61	43,20	88,37
45	310,38	10,07	96,76

continua

continuação

46	271,79	0,00	100,00
47	343,09	0,00	100,00
48	314,57	0,00	100,00
49	402,65	1,26	99,69
50	369,10	0,00	100,00
51	386,71	0,00	100,00
52	372,45	0,00	100,00
53	416,07	0,00	100,00
54	402,65	0,00	100,00
55	421,94	0,00	100,00
56	427,82	0,00	100,00
57	392,58	0,00	100,00
58	406,85	0,00	100,00
59	438,72	124,57	71,61
60	384,20	157,29	59,06
61	458,45	232,12	49,37
62	415,46	140,51	66,18

Tabela A.3 – Valores da concentração de fenol e eficiência de remoção durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de PET.

Dia	Concentração de fenol (mg/L)		% removida
	afluente	efluente	
0	95,51	0,00	100,00
1	141,19	0,00	100,00
2	124,06	0,00	100,00
3	132,22	0,00	100,00
4	127,32	0,00	100,00
5	142,82	0,00	100,00
6	118,35	0,00	100,00
7	140,38	0,00	100,00
8	121,62	0,00	100,00
10	130,59	0,00	100,00
11	258,65	0,00	100,00
12	207,26	0,00	100,00
13	235,81	0,00	100,00
14	202,37	0,00	100,00
17	256,20	0,00	100,00
18	257,01	0,00	100,00
19	321,45	0,00	100,00
20	282,30	0,00	100,00
21	323,08	0,00	100,00
23	290,46	0,00	100,00
24	317,93	0,00	100,00
25	338,06	0,00	100,00
26	290,24	0,00	100,00
27	340,58	0,00	100,00
31	374,97	37,75	89,93
32	362,39	0,00	100,00
33	428,66	0,00	100,00
34	395,94	0,00	100,00
38	416,91	254,17	39,03
39	420,27	222,72	47,01
40	-	163,16	-
41	-	87,24	-
42	-	0,00	-
43	418,59	5,03	98,80
44	393,42	33,13	91,58
45	312,05	10,91	96,51

continua

continuação

46	290,24	0,00	100,00
47	343,93	0,00	100,00
48	296,95	0,00	100,00
49	399,30	0,00	100,00
50	359,87	0,00	100,00
51	385,87	0,00	100,00
52	367,42	0,00	100,00
53	407,68	0,00	100,00
54	402,65	0,00	100,00
55	432,85	0,00	100,00
56	448,79	0,00	100,00
57	398,46	32,72	91,79
58	407,68	98,98	75,72
59	419,43	78,43	81,30
60	393,42	48,23	87,74
61	451,84	16,74	96,29
62	418,77	100,25	76,06

Tabela A.4 – Valores da concentração de fenol e eficiência de remoção durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de PVC.

Dia	Concentração de fenol (mg/L)		% removida
	afluente	efluente	
0	76,75	0,00	100,00
1	122,43	0,00	100,00
2	93,88	0,00	100,00
3	105,30	0,00	100,00
4	127,32	0,00	100,00
5	115,91	0,00	100,00
6	94,70	0,00	100,00
7	119,98	0,00	100,00
8	112,64	0,00	100,00
10	112,64	0,00	100,00
11	250,49	0,00	100,00
12	194,21	0,00	100,00
13	230,10	0,00	100,00
14	191,76	0,00	100,00
17	167,29	0,00	100,00
18	252,94	0,00	100,00
19	314,11	0,00	100,00
20	274,14	0,00	100,00
21	329,61	0,00	100,00
23	288,01	0,00	100,00
24	286,89	0,00	100,00
25	329,67	0,00	100,00
26	297,79	0,00	100,00
27	334,70	0,00	100,00
31	312,89	85,98	72,52
32	278,50	0,00	100,00
33	426,14	20,97	95,08
34	385,87	0,00	100,00
38	408,52	0,00	100,00
39	378,32	0,00	100,00
40	366,58	0,00	100,00
41	437,04	0,00	100,00
42	404,33	0,00	100,00
43	402,65	0,00	100,00
44	392,58	0,00	100,00

continua

continuação

45	479,83	0,00	100,00
46	441,24	126,25	71,39
47	467,24	46,56	90,04
48	396,78	82,63	79,18
49	395,94	148,06	62,61
50	-	128,76	-
51	-	116,18	-
52	-	102,76	-
53	-	96,05	-
54	-	13,84	-
55	329,67	2,52	99,24
56	336,38	55,36	83,54
57	304,50	55,36	81,82
58	312,89	101,50	67,56
59	326,31	0,00	100,00
60	284,37	0,00	100,00
61	348,49	110,58	68,27
62	323,69	123,40	61,88

Tabela A.5 – Valores de DQO e eficiência de redução durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de poliestireno.

Dia	DQO (mg/L)		% removida
	afluente	efluente	
0	217,00	209,00	3,69
2	298,60	105,00	64,84
4	162,88	29,00	82,20
6	561,98	80,25	85,72
10	535,25	98,96	81,51
12	749,05	105,64	85,90
14	829,22	78,91	90,48
17	869,31	84,26	90,31
19	936,12	86,93	90,71
21	1163,28	100,29	91,38
24	1216,73	90,94	92,53
26	1096,47	92,28	91,58
31	1029,66	315,43	69,37
33	989,57	34,82	96,48
34	1149,92	86,93	92,44
38	1096,47	608,06	44,54
40	-	547,93	-
42	-	205,86	-
45	1109,83	119,00	89,28
47	1483,98	98,96	93,33
49	1109,83	81,59	92,65
52	1190,01	74,91	93,71
54	1323,63	110,98	91,62
59	1109,83	359,52	67,61
61	1056,38	557,29	47,25

Tabela A.6 – Valores de DQO e eficiência de redução durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de PET.

Dia	DQO (mg/L)		% removida
	afluente	efluente	
0	285,00	179,14	37,14
2	353,00	65,14	81,55
4	325,70	43,43	86,67
6	628,79	81,59	87,02
10	628,79	74,91	88,09
12	815,86	78,91	90,33
14	842,59	161,76	80,80
17	1016,30	61,54	93,94
19	922,76	57,53	93,77
21	1136,56	85,59	92,47
24	1163,28	96,28	91,72
26	1109,83	78,91	92,89
31	1069,75	161,76	84,88
33	1029,66	42,84	95,84
34	1203,37	62,88	94,77
38	1296,91	694,92	46,42
40	-	308,75	-
42	-	151,07	-
45	1109,83	112,32	89,88
47	1377,08	98,96	92,81
49	1096,47	68,22	93,78
52	1163,28	70,90	93,91
54	1323,63	76,24	94,24
59	1216,73	335,47	72,43
61	1243,46	84,26	93,22

Tabela A.7 – Valores de DQO e eficiência de redução durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de PVC.

Dia	DQO (mg/L)		% removida
	afluente	efluente	
0	393,50	92,28	76,55
2	352,88	97,71	72,31
4	488,50	95,00	80,55
6	495,17	145,73	70,57
10	655,51	76,24	88,37
12	789,14	68,22	91,35
14	708,96	60,21	91,51
17	762,41	76,24	90,00
19	922,76	54,86	94,05
21	1123,20	70,90	93,69
24	1216,73	72,23	94,06
26	1029,66	62,88	93,89
31	1002,94	260,64	74,01
33	1123,20	96,28	91,43
34	1136,56	65,55	94,23
38	1163,28	78,91	93,22
40	1083,11	45,51	95,80
42	1149,92	38,83	96,62
45	1577,52	85,59	94,57
47	1644,33	216,55	86,83
49	1403,81	396,94	71,72
52	-	521,21	-
54	-	280,69	-
59	789,14	49,52	93,73
61	762,41	319,44	58,10

Tabela A.8 – Valores de pH durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de poliestireno.

Dia	pH		Dia	pH	
	afluente	efluente		afluente	efluente
0	7,5	8,63	33	8,33	8,23
1	7,47	8,33	34	7,55	7,88
2	7,83	7,93	35	-	-
3	7,42	7,72	36	-	-
4	7,78	7,73	37	-	-
5	7,63	7,33	38	8,17	8,28
6	7,62	7,44	39	8,31	8,18
7	7,71	7,68	40	-	8,21
8	7,62	7,51	41	-	8,53
10	7,46	7,49	42	-	8,42
11	8,11	7,73	43	7,85	8,14
12	7,83	7,75	44	7,76	8,77
13	7,78	7,78	45	7,93	8,21
14	7,58	7,78	46	7,73	8,36
15	7,55	7,75	47	8,35	8,37
16	7,61	7,82	48	7,94	7,72
17	7,63	7,88	49	8,11	7,84
18	7,96	7,95	50	7,53	7,96
19	8,12	8,01	51	7,81	7,97
20	7,53	7,93	52	7,5	7,76
21	7,93	7,89	53	7,67	7,82
23	8,47	8,04	54	7,61	8,05
24	7,69	8,01	55	7,72	7,66
25	8,27	7,95	56	-	-
26	8,12	8,06	57	7,28	7,83
27	8,3	8,11	58	7,26	7,9
29	-	-	59	7,73	7,85
30	-	-	60	7,38	7,82
31	8,18	8,25	61	8,26	8,15
32	7,67	7,9			

Tabela A.9 – Valores de pH durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de PET.

Dia	pH		Dia	pH	
	afluente	efluente		afluente	efluente
0	7,8	8,99	33	8,09	8,31
1	7,91	9,02	34	7,49	8,25
2	7,91	8,22	35	-	-
3	7,64	8,43	36	-	-
4	7,44	8,27	37	-	-
5	7,87	8,39	38	8,35	7,86
6	7,32	8,34	39	8,36	8,32
7	7,83	8,43	40	-	8,48
8	7,54	8,29	41	-	8,67
10	7,74	8,09	42	-	8,5
11	8,08	7,68	43	7,89	8,28
12	7,67	8,02	44	7,86	8,42
13	7,85	8,15	45	8,0	8,33
14	7,58	8,22	46	7,57	8,34
15	7,61	8,25	47	7,68	8,24
16	7,59	8,28	48	7,25	8,26
17	8,3	8,54	49	8,15	8,24
18	8,19	8,34	50	7,69	8,4
19	8,2	8,37	51	8,29	8,41
20	7,69	8,37	52	7,76	8,14
21	8,3	8,29	53	7,67	8,27
23	8,23	8,45	54	7,38	8,17
24	7,7	8,35	55	7,9	8,2
25	8,05	8,29	56	-	-
26	7,85	8,37	57	7,32	8,32
27	8,08	8,26	58	7,38	8,46
29	-	-	59	8,03	8,25
30	-	-	60	7,63	8,1
31	8,14	8,4	61	8,06	8,05
32	7,94	8,52			

Tabela A.10 – Valores de pH durante a operação contínua do reator anaeróbio de leito fluidizado preenchido com partículas de PVC.

Dia	pH		Dia	pH	
	afluente	efluente		afluente	efluente
0	7,52	9,16	33	8,09	8,2
1	7,62	8,9	34	7,42	7,92
2	7,43	8,17	35	-	-
3	7,51	8,0	36	-	-
4	7,68	8,36	37	-	-
5	7,37	8,06	38	7,72	7,93
6	7,0	7,95	39	7,66	7,82
7	7,63	8,08	40	7,48	8,26
8	7,42	7,97	41	7,8	7,75
10	7,68	7,96	42	7,78	7,76
11	7,67	7,64	43	7,61	7,79
12	7,39	7,91	44	7,38	8,27
13	7,75	7,85	45	8,09	7,96
14	7,49	7,86	46	7,73	8,03
15	7,54	7,91	47	7,51	7,56
16	7,44	7,9	48	7,21	7,97
17	7,23	7,91	49	7,91	8,03
18	7,79	7,88	50	-	7,11
19	8,08	7,9	51	-	6,84
20	7,52	7,96	52	-	7,6
21	8,13	8,05	53	-	7,03
23	8,15	8,28	54	-	6,95
24	7,54	8,02	55	7,73	7,8
25	7,98	8,1	56	-	-
26	7,81	8,19	57	7,05	8,37
27	7,93	7,91	58	7,22	7,51
29	-	-	59	7,71	8,12
30	-	-	60	7,3	8,14
31	7,72	8,25	61	7,0	7,35
32	7,6	8,15			

Tabela A.11 – Valores de concentração de alcalinidade a bicarbonato durante a operação contínua dos reatores preenchidos com partículas de poliestireno, PET e PVC.

Dia	Alcalinidade a bicarbonato (mg/L)					
	Poliestireno		PET		PVC	
	afluente	efluente	afluente	efluente	afluente	efluente
0	140,23	714,45	130,63	1485,50	128,74	2963,67
2	127,57	288,89	136,01	386,72	126,63	466,07
4	126,63	248,16	123,36	248,16	123,36	184,23
6	145,61	130,85	129,68	186,34	126,63	239,72
10	153,10	140,45	153,10	178,85	146,77	189,61
11	257,48	137,62	292,38	179,29	279,73	243,22
12	301,76	226,85	328,23	259,87	329,40	296,38
14	333,83	294,05	347,43	297,32	306,92	330,34
17	384,44	320,52	548,81	409,25	356,81	371,79
19	404,31	331,73	418,13	402,92	400,31	386,05
21	408,75	371,51	427,50	405,70	400,31	404,53
22	485,27	438,09	433,87	437,56	484,74	468,93
23	493,70	443,62	465,24	443,62	445,99	455,75
31	485,80	388,01	469,45	392,22	463,39	366,13
33	537,72	417,00	465,76	430,18	471,83	392,75
34	491,33	452,58	423,59	432,02	435,71	411,46
38	458,65	429,65	444,15	441,78	431,50	450,74
40	-	-	-	-	421,74	425,96
42	-	424,12	-	444,68	495,55	444,15
45	464,59	427,58	382,33	376,17	404,94	404,96
47	462,97	378,11	257,52	349,96	420,93	386,34
49	436,61	419,26	496,01	399,46	386,34	444,84
52	464,64	474,54	474,54	461,30	-	-
54	482,77	448,18	437,39	460,53	-	-
55	449,85	432,50	404,47	428,38	439,06	310,36
59	470,43	418,48	428,38	404,47	394,57	363,20
61	441,74	627,39	419,26	418,48	274,87	259,19