

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

HENRIQUE ROSSI ALTERO

REMOÇÃO DE BIFENILAS POLICLORADAS EM REATOR
ANAERÓBIO

São Carlos

2011

HENRIQUE ROSSI ALTERO

REMOÇÃO DE BIFENILAS POLICLORADAS EM REATOR ANAERÓBIO

Trabalho de Graduação apresentado à
Escola de Engenharia de São Carlos da
Universidade de São Paulo para
conclusão do curso de Engenharia
Ambiental.

Área de Estudo: Engenharia Ambiental

Orientadora: Profa. Dra. Maria Bernadete

A. Varesche Silva

São Carlos

2011

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

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

A466r Altero, Henrique Rossi
Remoção de bifenilas policloradas em reator anaeróbio / Henrique Rossi Altero ; orientador Maria Bernadete A. Varesche Silva. -- São Carlos, 2011.

Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2011.

1. PCB. 2. Ascarel. 3. Biofilmes. 4. Biorremediação. 5. Rahlf. I. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Candidato(a): **Henrique Rossi Altero**

Monografia defendida e aprovada em: **11/11/2011** pela Comissão Julgadora:



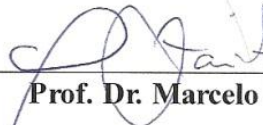
Maria Bernadete Amancio Varesche Silva



Regiane Cristina Corrêa



Lorena Lima de Oliveira



Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

Aos meus pais, Sebastião e Ana D'Álva,
pelo apoio, incentivo e carinho em toda
essa jornada em que um sonho se torna
realidade, graças a vocês.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Maria Bernadete Varesche pela orientação e ajuda, pela paciência em ler meus textos e pela oportunidade de realizar esse trabalho. Muito obrigado professora, por tudo.

À Dra. Regiane Cristina Corrêa, pela transformação de um simples trabalho em uma família. Obrigado pela ajuda, pelas lições, conselhos, companhia e incentivo.

A todos os professores e amigos do LPB, com os quais aprendi, aprendi e aprendi muito. Dagoberto, Maria Ângela, Isabel, Eloísa, Eduardo, Mara, Carolina, Gustavo, Lorena e Sandra, obrigado pelas dicas, sugestões e atalhos preciosos, pela amizade e momentos de alegria nessa caminhada.

Aos meus amigos que acompanharam meu trabalho e estiveram sempre comigo, mesmo que para contar uma simples piada e apelidar o reator.

À minha companheira, Stephanie, pelo apoio e atenção, obrigado pelos conselhos, pelo ouvido e paciência nos momentos felizes e infelizes.

À escola de Engenharia de São Carlos, e a todos que estão envolvidos nesse grande barato que é a academia.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão da bolsa de iniciação científica e por me ajudar a elevar minhas metas.

À minha família, pelo suporte e torcida, sem vocês nada disso seria possível.

Ao Responsável por esse mundão recheado de coisas boas, obrigado pela oportunidade de aqui estar.

“All we have to decide is what to do with the time that is given to us.”

J.R.R. Tolkien, *The Fellowship of the Ring*

RESUMO

ALTERO, H. R. **Remoção de bifenilas policloradas em reator**. 2011. Trabalho de Graduação – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

O presente projeto teve como objetivo avaliar o potencial de remoção de bifenilas policloradas (PCBs) em reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF). Bifenilas policloradas são compostos que foram amplamente utilizados como fluidos isolantes em material elétrico, sobretudo em transformadores e capacitores, durante boa parte do século passado. Tais compostos são extremamente tóxicos e persistentes no meio, representando sério risco de contaminação e à saúde humana. O desempenho do RAHLF na remoção de PCBs foi testado sob condição metanogênica. Inicialmente foram realizados ensaios em reatores operados em batelada com espuma de poliuretano, alimentados com meio de cultura, ascarel (Askarel®) e co-substrato para avaliar o potencial metanogênico e definir o melhor solvente para solubilização do ascarel no RAHLF. Dentre os solventes testados, verificou-se que o melhor foi o Triton X-100 (10%). A velocidade máxima de produção de metano foi de $3,82 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol metano/mL.g STV}$ referente ao reator alimentado com ácido fórmico (600 mg/L), tal velocidade foi obtida com 30 horas de operação. O reator anaeróbio foi operado de forma contínua com ascarel por 246 dias. Durante esse período foram realizadas análises físico-químicas, cromatográficas e de microbiologia. Ao longo da operação constatou-se variação na coloração do biofilme no leito do reator. A eficiência de remoção de matéria orgânica foi de 96% para concentração afluyente de $2083 \pm 476\text{mg/L}$ para a fase de adaptação e 90% com concentração afluyente de $1616 \pm 292\text{mg/L}$ durante a fase com adição de ascarel. Por meio das análises microscópicas verificou-se variação longitudinal e temporal na composição da comunidade microbiana no reator, com produção de biopolímero extracelular e presença de micro bolhas de óleo aderidas à parede do suporte; além da presença de morfologias semelhantes à *Methanosaeta*, *Methanosarcina*, bacilos fluorescentes e *espiroquetta*.

Palavras chave: ascarel, PCBs, descloração, RAHLF, biorremediação, biofilme.

ABSTRACT

ALTERO, H. R. **Removal of polychlorinated biphenyls in anaerobic reactor.** 2011. Graduation Work – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

This project aimed to assess the potential removal of polychlorinated biphenyls (PCBs) in a bench-scale horizontal-flow anaerobic immobilized biomass (HAIB) reactor. Polychlorinated biphenyls are compounds that have been widely used as insulating fluids in electrical equipment, especially transformers and capacitors, for much of the last century. Such compounds are extremely toxic and persistent in the environment representing serious risk of contamination and human health. The performance of HAIB reactor in the removal of PCBs was tested under methanogenic condition, tests were conducted initially in batch reactors with polyurethane foam as support material, fed with culture medium, Askarel® and co-substrate to evaluate the methanogenic potential and define the best solvent for the solubilization of Polychlorinated Biphenyls in the reactor. It was found that the best solvent was Triton X-100 (10%). The maximum methane production obtained was $3,82 \times 10^{-3}$ mol methane / mL.g TVS for the reactor fed with formic acid (600 mg/L), this speed was achieved with 30 hours of operation. The anaerobic reactor was operated continuously with Askarel® for 246 days. During this period different physical and chemical analysis were carried out, in addition to other chromatographic and microbiological analysis. Throughout the operation there was change in color from the bed biofilm reactor. The removal efficiency of organic matter was 96% for influent concentration of 2083 ± 476 mg/L during the adaptation phase and 90% with influent concentration of 1616 ± 292 mg/L during the phase with the addition of Polychlorinated Biphenyls. Through microscopic analysis it was observed longitudinal and temporal variation in microbial community in the bioreactor, with production of extracellular polymer and the presence of micro bubbles of oil adhered to the wall of the foam, besides the presence of morphologies similar to *Methanosaeta*, *Methanosarcina*, fluorescent bacilli and *Spirochaetes*.

Keywords: Polychlorinated Biphenyls, PCBs, dechlorination, HAIB, bioremediation, biofilm.

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 3.1 – Estrutura molecular dos PCBs</i>	29
<i>Figura 3.2 – Estimativa do consumo acumulado de PCBs por região geográfica (em toneladas)</i>	32
<i>Figura 4.1 – Fluxograma Experimental</i>	43
<i>Figura 4.2 – Esquema dos reatores em batelada</i>	48
<i>Figura 4.3 – Esquema do reator anaeróbio (RAHLF) em escala de bancada</i>	50
<i>Figura 4.4 – Coluna de extração</i>	55
<i>Figura 4.5 – Cromatograma Padrão Aroclor 1016, 200mg/L, baixa cloração</i>	57
<i>Figura 4.6 – Cromatograma Padrão Aroclor 1016, 200mg/L, alta cloração</i>	57
<i>Figura 5.1 – Exemplo de solubilização e separação de fases: frasco a esquerda – solventes orgânicos, completa solubilização – frasco a direita – álcoois e ácidos, separação das fases</i>	60
<i>Figura 5.2 – Produção de metano em função do tempo</i>	64
<i>Figura 5.3 – RAHLF – (a) Início da operação (b) Após 231 dias de operação</i>	65
<i>Figura 5.4 – Perfil Longitudinal do RAHLF – (a) L/D = 1 (b) L/D = 10</i>	66
<i>Figura 5.5 – Perfil Longitudinal do RAHLF – (a) L/D = 14 (b) L/D = 19</i>	66
<i>Figura 5.6 – Variação temporal da DQO afluente e efluente</i>	68
<i>Figura 5.7 – Variação temporal do pH efluente</i>	69
<i>Figura 5.8 – Variação temporal de Alcalinidade</i>	70
<i>Figura 5.9 – Variação temporal de ácidos orgânicos</i>	71
<i>Figura 5.10 – Variação temporal da produção de metano</i>	72
<i>Figura 5.11 – DQO Perfis espaciais</i>	73
<i>Figura 5.12 – Variação espacial de pH Perfis</i>	74

<i>Figura 5.13 – Curva de Calibração de PCBs.....</i>	<i>75</i>
<i>Figura 5.14 – Mistura Aroclor 1016 e 1260, 2 mg/L, curva de calibração</i>	<i>75</i>
<i>Figura 5.15 – Cromatograma Efluente RAHLF – Início da operação com ascarel....</i>	<i>76</i>
<i>Figura 5.16 – Cromatograma Efluente RAHLF – Após 105 dias de operação com ascarel.....</i>	<i>77</i>
<i>Figura 5.17 – Cromatograma Efluente RAHLF – Após 169 dias de operação com ascarel.....</i>	<i>77</i>
<i>Figura 5.18 – Cromatograma 1º Perfil – Afluente.....</i>	<i>78</i>
<i>Figura 5.19 – Cromatograma 1º Perfil – Ponto de amostragem L/D = 5</i>	<i>79</i>
<i>Figura 5.20 – Cromatograma 1º Perfil – Ponto de amostragem L/D = 10</i>	<i>79</i>
<i>Figura 5.21 – Cromatograma 1º Perfil – Ponto de amostragem L/D = 14</i>	<i>79</i>
<i>Figura 5.22 – Cromatograma 1º Perfil – Efluente.....</i>	<i>80</i>
<i>Figura 5.23 – Microscopia de contraste de fase (a) Methanosaeta (b) Methanosarcina (2000X)</i>	<i>81</i>
<i>Figura 5.24 – Microscopia de contraste de fase (2000X) – Bacilo Fluorescente.....</i>	<i>81</i>
<i>Figura 5.25 – Microscopia de contraste de fase: (a) Methanosaeta (b) bacilos (2000X)</i>	<i>84</i>
<i>Figura 5.26 – Microscopia de contraste de fase: (a) e (b) resíduos inertes (2000X)</i>	<i>84</i>
<i>Figura 5.27 – Microscopia de contraste de fase (a) bacilos e Methanosaeta (B) cocos (2000X)</i>	<i>84</i>
<i>Figura 5.28 – Microscopia de contraste de fase – Primeiro perfil (a) Methanosaeta (b) Microscopia de fluorescência de Methanosarcina (2000X)</i>	<i>87</i>
<i>Figura 5.29 – Microscopia de contraste de fase – Primeiro perfil – (a) Aglomerado de células e material inerte (b) Gotas de óleo (2000X)</i>	<i>87</i>

<i>Figura 5.30 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a) Methanosaeta (b) Methanosarcina.....</i>	<i>88</i>
<i>Figura 5.31 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a) polímero extra celular (b) óleo na matriz suporte</i>	<i>88</i>
<i>Figura 5.32 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a) Methanosaeta (b) aglomerado de bacilos arredondados e cocos.....</i>	<i>89</i>
<i>Figura 5.33 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a) formação de biofilme (b) emaranhado de Methanosaeta na matriz suporte</i>	<i>90</i>
<i>Figura 5.34 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a) colonização do material suporte (b) gotas de óleo aderidas ao biofilme</i>	<i>90</i>
<i>Figura 5.35 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a) diversidade morfológica no biofilme (b) bacilos.....</i>	<i>91</i>
<i>Figura 5.36 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a) gotas de óleo estudadas em microanálise (b) morfologia semelhante à Espiroqueta</i>	<i>91</i>
<i>Figura 5.37 – Microanálise de gota de óleo: presença de cloro</i>	<i>92</i>

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 3.1 – Características dos PCBs.....</i>	<i>29</i>
<i>Tabela 3.2 – Composição e grau de cloração de misturas de PCBs</i>	<i>30</i>
<i>Tabela 3.3 – Propriedades físico-químicas de alguns PCBs.....</i>	<i>33</i>
<i>Tabela 3.4 – Custo médio do tratamento de resíduos de PCBs.....</i>	<i>37</i>
<i>Tabela 4.1 – Composição do ensaio</i>	<i>45</i>
<i>Tabela 4.2 – Composição dos reatores em batelada</i>	<i>47</i>
<i>Tabela 4.3 – Composição do Meio Basal.....</i>	<i>52</i>
<i>Tabela 4.4 – Solução de Vitaminas.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabela 4.5 – Descrição e frequência das análises</i>	<i>54</i>
<i>Tabela 5.1 – Solubilidade do ascarel</i>	<i>61</i>
<i>Tabela 5.2 – Frequências observadas (após 7 dias).....</i>	<i>81</i>
<i>Tabela 5.3 – Frequências observadas (após 14 dias).....</i>	<i>82</i>
<i>Tabela 5.4 – Caracterização morfológica de bactérias e arqueias do biofilme do RAHLF no primeiro perfil.....</i>	<i>85</i>
<i>Tabela 8.1 – Produção de metano. Valores médios de metano mmol/g de STV ...</i>	<i>101</i>
<i>Tabela 8.2 – RAHLF Perfis.....</i>	<i>101</i>
<i>Tabela 8.3 - RAHLF pH.....</i>	<i>102</i>
<i>Tabela 8.4 - RAHLF DQO Efluente</i>	<i>102</i>
<i>Tabela 8.5 - RAHLF DQO Afluente</i>	<i>103</i>
<i>Tabela 8.6 – Alcalinidade Total</i>	<i>103</i>
<i>Tabela 8.7 – Metano RAHLF.....</i>	<i>103</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
2. OBJETIVOS	27
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	28
3.1. BIFENILAS POLICLORADAS E ASCAREL	28
3.1.1. ESTRUTURA QUÍMICA	28
3.1.2. PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO.....	30
3.1.3. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.....	32
3.2. AMBIENTE	34
3.2.1. OCORRÊNCIA NO AMBIENTE.....	34
3.2.2. TOXICOLOGIA.....	35
3.3. TECNOLOGIAS EMPREGADAS NA DEGRADAÇÃO E DESCONTAMINAÇÃO DE PCBS	36
3.3.1. INCINERAÇÃO.....	37
3.3.2. DESCLORAÇÃO QUÍMICA.....	38
3.3.3. BIODEGRADAÇÃO	39
3.4. LEGISLAÇÃO	42
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.1. ASCAREL	43
4.2. ENSAIOS PRELIMINARES.....	44
4.2.1. SOLUBILIZAÇÃO	44
4.2.2. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL METANOGÊNICO EM REATORES EM BATELADA	46
4.3. RAHLF	49
4.3.1. MEIO SUPORTE	50
4.3.2. INÓCULO	51

4.3.3. MEIO DE NUTRIENTES.....	51
4.4. ANÁLISES.....	53
4.4.1. FÍSICO-QUÍMICAS.....	53
4.4.2. PCBS.....	54
4.4.2.1. EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS	55
4.4.2.2. CURVA DE CALIBRAÇÃO DE PCBS.....	56
4.4.3. EXAMES MICROSCÓPICOS.....	58
4.4.3.1. MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASE	58
4.4.3.2. ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	59
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
5.1. SOLUBILIZAÇÃO.....	60
5.2. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL METANOGÊNICO EM REATORES BATELADA.....	62
5.3. RAHLF	65
5.4. CROMATOGRAFIA DE PCBS.....	74
5.5. EXAMES MICROSCÓPICOS	80
5.5.1. ENSAIOS PRELIMINARES	80
5.5.2. RAHLF.....	83
5.5.2.1. MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASE	83
5.5.2.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	87
6. CONCLUSÕES	92
7. BIBLIOGRAFIA	93
8. ANEXOS	101

1. INTRODUÇÃO

O avanço tecnológico alcançado nos últimos dois séculos foi acompanhado não somente pela significativa melhora na qualidade de vida das pessoas, como por crescentes problemas ambientais. Os resíduos produzidos por nossa sociedade demandam por soluções de tratamento e disposição para evitar a contaminação ambiental.

Em 2004, doze compostos orgânicos foram listados como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), pela Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes, inserida no Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP - em português PNUMA). Dentre esses compostos, estão incluídos PCBs, nove pesticidas organoclorados (aldrin, clordano, diclorodifeniltricloreto (DDT), dieldrin, endrin, mirex, heptacloro, hexaclorobenzeno e toxafeno), além de dioxinas e furanos. Embora o uso desses POPs, em todo o mundo, tenha sido restringido devido à sua toxicidade e persistência, ainda podem ser encontrados como contaminantes no ambiente natural devido ao seu uso e continuam a representar ameaça para a saúde humana.

Este trabalho aborda a problemática dos PCBs (bifenilas policloradas), que foram utilizados em diferentes equipamentos, em especial os equipamentos elétricos, dada as suas boas propriedades dielétricas. Todavia, representam enorme perigo, pois existem poucos métodos eficazes para sua descontaminação e disposição.

PCBs são compostos de origem antropogênica, sintetizados pela primeira vez na Alemanha, no final do século XIX, atingindo a produção em escala industrial, em 1929, pela Monsanto nos EUA (TANABE, 1988).

As misturas comerciais de PCBs foram vendidas sob diferentes marcas, no Brasil são conhecidas como ascarel (Askarel®), um óleo, cuja composição predominante apresenta 50% a 70% de PCBs e 30 a 50% de triclorobenzenos (TCBs) (ABRAMOWICZ, 1990; BORJA et al., 2005; TIEDJE et al., 1993).

No Brasil, não se tem registro de produção de PCBs, sendo esses produtos importados dos EUA e Alemanha. A quantidade importada, no entanto, é desconhecida. Estimativas indicam que cerca de 68 mil toneladas tenham entrado no país, sendo que a maior parte encontra-se em uso ou aguardando destinação adequada (UNEP, 2006).

As restrições para o uso de desses compostos no Brasil foram introduzidas primeiramente pela Portaria Interministerial 19, de 29 de janeiro de 1981, que proíbe a produção, comercialização e utilização de PCBs em todo território nacional, determinando ainda cuidados na destinação de equipamentos e resíduos contaminados. A Portaria permite, entretanto, que equipamentos contendo PCBs continuem em operação até sua substituição.

Apesar das restrições em sua utilização, a contaminação ambiental por PCBs continua a acontecer, seja por vazamentos, descartes clandestinos ou acidentes. Uma vez no meio, a contaminação dos seres vivos é inevitável, sendo agravada pelos mecanismos de bioacumulação na cadeia trófica (FIEDLER et al., 1994).

Os processos de tratamento para os compostos que contém PCBs são poucos e em sua maioria apresentam complicações e custos elevados, que inviabilizam sua aplicação. A principal técnica utilizada no tratamento de óleos e equipamentos contaminados por PCBs no Brasil é a incineração, que apresenta alguns inconvenientes, tais como: riscos no processo de preparação dos materiais a serem incinerados; desperdício de material e energia, inutilizando resíduos que

poderiam ser reciclados; necessidade de um aterro Classe I para dispor as cinzas geradas; geração de efluentes líquidos e gasosos, principalmente dioxinas e furanos. A descontaminação a vácuo em autoclaves tem sido uma alternativa, entretanto, o resíduo extraído ainda demanda incineração, levando aos mesmos problemas supracitados.

A utilização de processos biotecnológicos para descloração de PCBs tem se mostrado como alternativa viável para o tratamento desses resíduos. A degradação aeróbia ocorre principalmente em isômeros com baixo grau de cloração, enquanto a descloração anaeróbia remove cloro de PCBs altamente clorados, sendo esta mais efetiva (ABRAMOWICZ, 1993), podendo resultar particularmente na remoção dos cloros nas posições *meta* e *para*, reduzindo assim, sua toxicidade (MOHN; TIEDJE, 1992).

O reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) vem sendo utilizado com sucesso na degradação de compostos tóxicos, como fenol, BTEX e Aldicarbe. O potencial de degradação de tóxicos apresentado pelo reator o enquadra como ótima opção para a biorremediação de bifenilas policloradas.

A partir das considerações apresentadas, pretendeu-se, nesse projeto de pesquisa, avaliar a remoção de bifenilas policloradas, contidas no ascarel, em reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF).

2. OBJETIVOS

- Avaliar o potencial de produção de metano em reatores operados em batelada, com material suporte, na remoção de ascarel;

- Determinar o melhor solvente para o ascarel em ensaios em reator operado em batelada;
- Avaliar a remoção de matéria orgânica e bifenilas policloradas em reator anaeróbio horizontal de leito fixo;
- Caracterizar por meio de exames microscópicos a comunidade microbiana.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. BIFENILAS POLICLORADAS E ASCAREL

3.1.1. ESTRUTURA QUÍMICA

Bifenilas Policloradas pertencem à classe dos hidrocarbonetos aromáticos clorados. Sua estrutura química é composta por dois anéis de benzeno unidos por uma ligação simples entre átomos de carbono e até 10 átomos de cloros (Figura 3.1). A obtenção destes compostos ocorre a partir da cloração catalítica de bifenilas na presença de um catalisador adequado, em geral cloreto férrico, e de cloro. O grau de cloração depende das condições da reação, tempo de exposição e quantidade de cloro presente, variando entre 20 a 70% de cloração (WHO, 1993).

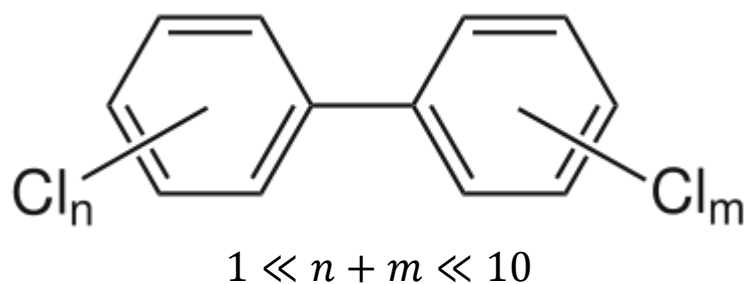


Figura 3.1 – Estrutura molecular dos PCBs

Adaptado de: Wiegel e Wu (2000)

As diferentes combinações possíveis para a ligação dos átomos de cloro resultam no total, teórico, de 209 diferentes estruturas denominadas de congêneres, sendo que destes, cerca de 130 estão presentes nas misturas comerciais (PENTEADO; VAZ, 2001). Resumo das características dos PCBs de acordo com a fórmula molecular e a quantidade de cloro está delineado na

Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Características dos PCBs

Fórmula Molecular	Nome Clorobifenila	Número de Isômeros possíveis	Nº IUPAC	Massa Molecular (g/mol)	Cloro (%)	Número de Isômeros identificados
C₁₂H₉Cl	Mono	3	1-3	188,65	18,79	3
C₁₂H₈Cl₂	Di	12	4-15	233,10	31,77	12
C₁₂H₇Cl₃	Tri	24	16-39	257,54	41,30	23
C₁₂H₆Cl₄	Tetra	42	40-81	291,99	48,65	41
C₁₂H₅Cl₅	Penta	46	82-127	326,43	54,30	39
C₁₂H₄Cl₆	Hexa	42	128-169	360,88	58,93	31
C₁₂H₃Cl₇	Hepta	24	170-193	395,32	62,77	18
Fórmula	Nome	Número	Nº	Massa	Cloro	Número de

Molecular		de	IUPAC	Molecular	(%)	Isômeros
		Isômeros		(g/mol)		identificados
		possíveis				
C₁₂H₂Cl₈	Octa	12	194-205	429,77	65,98	11
C₁₂HCl₉	Nona	3	206-208	464,21	68,73	3
C₁₂Cl₁₀	Deca	1	209	498,66	71,10	1

Fonte: Fiedler (1997)

3.1.2. PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO

Os compostos contendo PCBs foram comercializados mundialmente sob diferentes marcas, Clophen (Bayer, Alemanha), Aroclor (Monsanto, EUA), Kanechlor (Kanegafuchi, Japão), Santotherm (Mitsubishi, Japão), Phenoclor e Pyralene (Prodolec, França), Fenchlor (Itália), e Sovol (Rússia). A principal produtora foi a americana Monsanto, com aproximadamente 98% da produção mundial de PCBs (BREIVIK et al., 2002; FIEDLER, 1997; WHO 1993).

A composição e grau de cloração de algumas das principais misturas de PCBs vendidas comercialmente estão apresentadas na Tabela 3.2. Segundo Fiedler (1997), diferentes misturas de Aroclor¹ foram utilizadas em diferentes épocas, levando a variações no tipo de exposição humana ao longo do tempo e distribuição geográfica.

Tabela 3.2 – Composição e grau de cloração de misturas de PCBs

Porcentagem de congêneres com o número indicado

¹ Aroclor[®] é a marca comercial das misturas fabricadas e vendidas pela Monsanto

de átomos de cloro											
Número de Átomos de Cloro											
Aroclor	Cloração (%)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Aroclor 1232	32	26%	29%	24%	14%						
Aroclor 1016	41	2%	19%	57%	22%						
Aroclor 1242	42	3%	13%	28%	30%	22%	4%				
Aroclor 1248	48	0%	2%	18%	40%	36%	4%				
Aroclor 1254	54	0%	0%	0%	11%	49%	34%	6%			
Aroclor 1260	60					12%	38%	41%	8%	1%	

Adaptado de: Fiedler (1997)

Segundo Breivik et al. (2002) a produção acumulada de bifenilas policloradas, no mundo, foi de aproximadamente 1,3 milhões de toneladas entre 1930 e 1993. Entretanto, essa quantia pode ser ainda maior, uma vez que, instalações situadas na Alemanha Oriental, Polônia e Áustria produziram PCBs em quantidades não conhecidas. Estimativa de consumo acumulado por região geográfica está apresentada na Figura 3.2.

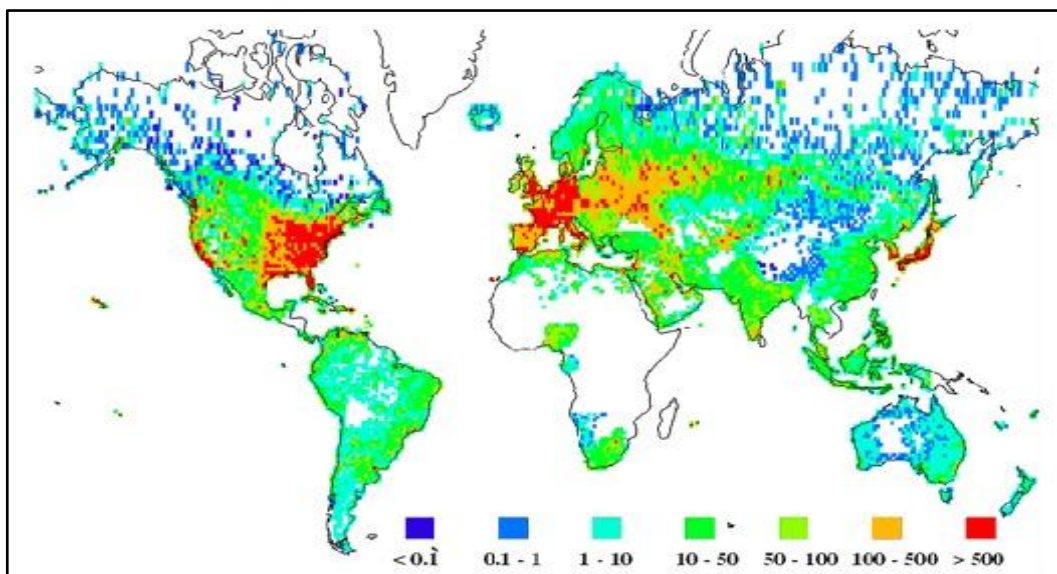


Figura 3.2 – Estimativa do consumo acumulado de PCBs por região geográfica (em toneladas).

Fonte: Breivik et al. (2002)

Estimativas apontam que mais da metade do total produzido de bifenilas policloradas esteja agora em aterros ou lixões, grande parte do restante entrou no ambiente pela eliminação de efluentes industriais em rios e águas costeiras, por vazamento de sistemas ou acidentes, ou por volatilização para a atmosfera proveniente da incineração de materiais contendo PCBs. Acredita-se que pequena parcela ainda esteja em uso (WHO, 1976).

3.1.3. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Os fatores fundamentais envolvidos na ampla disseminação de PCBs foram suas propriedades físico-químicas, tais como, alta constante dielétrica, elevada estabilidade térmica e química, baixa pressão de vapor, alta condutividade térmica e

alta solubilidade em meios hidrofóbicos (Tabela 3.3) (FIEDLER, 1997; PENTEADO; VAZ, 2001).

Tabela 3.3 – Propriedades físico-químicas de alguns PCBs

Aroclor	Solubilidade em água a 25°C (mg/L)	Pressão de Vapor a 25°C (torr)	Densidade a 25°C (g/cm ³)	Aparência	Ponto de Ebulição a 750 torr (°C)
1016	0,42	$4,0 \times 10^{-4}$	1,33	Óleo claro	325-356
1221	0,59	$6,7 \times 10^{-3}$	1,15	Óleo claro	275-320
1232	0,45	$4,1 \times 10^{-3}$	1,24	Óleo claro	290-325
1242	0,24	$4,1 \times 10^{-3}$	1,35	Óleo claro	325-366
1248	0,054	$4,9 \times 10^{-3}$	1,41	Óleo claro	340-375
1254	0,021	$7,7 \times 10^{-5}$	1,5	Óleo viscoso amarelo claro	365-390
1260	0,0027	$4,0 \times 10^{-5}$	1,58	Resina viscosa amarelo clara	385

Fonte: WHO (1987)

As propriedades físico-químicas dos PCBs permitiram sua utilização em diversas aplicações comerciais, tendo sido utilizados em sistemas de transferência de calor, como óleos de corte, fluidos dielétricos em transformadores e capacitores, fluidos hidráulicos, óleos lubrificantes, plastificante para borracha, plastificante para resinas sintéticas, papéis autocopiativos sem carbono, adesivos, tintas, tintas de impressão, selantes e pesticidas. (OSPAR, 2001; WHO, 1976).

3.2. AMBIENTE

3.2.1. OCORRÊNCIA NO AMBIENTE

Durante o período em que os PCBs foram fabricados, entre 1929 e 1977, o principal mecanismo de entrada no meio ambiente era através de resíduos contaminados gerados em seu próprio processo produtivo. Tais resíduos foram dispostos em aterros ou lixões, gerando grande passivo ambiental. PCBs também entraram no ambiente através de derrames acidentais e vazamentos durante o transporte de produtos químicos, ou de vazamentos ou incêndios em transformadores, capacitores ou outros produtos que continham tais compostos (ATSDR, 2000).

Atualmente, com a produção de PCBs banida em grande parte dos países e a sua utilização controlada, a contaminação ambiental por bifenilas policloradas passou a ser restrita a depósitos não preparados para lidar com tais compostos, acidentes e vazamentos em equipamentos contaminados, ou pela incineração de resíduos contaminados (ATSDR, 2000).

A estabilidade química e estrutural das moléculas de PCBs foi o principal fator responsável pelo sucesso tecnológico dessas substâncias, de maneira análoga, tal característica confere aos PCBs estabilidade ante a degradação no meio, especialmente para os congêneres altamente clorados, que além de persistirem no meio, podem se acumular na cadeia trófica. (ATSDR, 2000; WHO, 2003).

Uma vez no solo e em águas superficiais as moléculas de bifenilas policloradas entram na atmosfera pela volatilização. Na atmosfera estarão presentes tanto na fase vapor quanto adsorvida no material particulado. A migração de PCBs

na atmosfera ocorre por meio de ciclos de volatilização, condensação e deposição, sendo levados na atmosfera de áreas de baixa e média latitude em direção a áreas de alta latitude, formando gradiente translatitudinal conhecido por “efeito de destilação global” (ATSDR, 2000).

No solo, o transporte para o lençol freático é limitado pela estabilidade da ligação entre esses compostos e a matriz do solo (WHO, 2003). A mobilidade das moléculas de PCBs está diretamente relacionada com a quantidade de cloro presente, quanto menos clorada for a molécula, maior será sua mobilidade (ATSDR, 2000; WHO, 1993).

3.2.2. TOXICOLOGIA

Estudos realizados pela agência de proteção ambiental americana (EPA) e outras entidades e órgãos internacionais evidenciaram que PCBs são carcinogênicos para animais. Entretanto, não há informações conclusivas sobre tais efeitos em humanos (ROSS, 2004).

As informações sobre efeitos adversos à saúde humana causados por PCBs foram obtidas a partir de estudos com pessoas expostas no local de trabalho, em acidentes ocorridos em 1968 e 1979, no Japão e Taiwan, nas cidades de Yusho e Yu-Cheng, respectivamente, devido ao consumo de alimentos, especialmente peixes, contaminados. Os principais efeitos sobre a saúde que têm sido associados com a exposição a PCBs em humanos ou animais incluem problemas na tireoide, fígado, alterações dérmica e ocular, alterações imunológicas, alterações no desenvolvimento neurológico, baixo peso ao nascer, toxicidade reprodutiva e câncer (ATSDR, 2000).

Segundo Nagpal (1992), devido à baixa solubilidade de PCBs em água, os efeitos tóxicos sub-letais e crônicos têm maior probabilidade de ocorrer do que efeitos agudos e letais. Crescimento, mutação, e reprodução são funções primárias que foram afetadas pela exposição de organismos aquáticos a PCBs.

A toxicidade dos PCBs depende diretamente da conformação espacial da molécula, apresentando, assim, grande variação de efeitos, desde toxicidade baixa até alta, com similaridade à toxicologia da tetraclorodibenzodioxina (TCDD), que é considerada como padrão de referência toxicológica (PENTEADO; VAZ, 2001).

De acordo com estudos realizados pela Monsanto, a LD₅₀ de efeito agudo (dose letal para 50% da população testada) para ratos (via oral) variou de 1 a 11g/kg, entre as misturas de PCBs. Os efeitos de misturas de PCB em microrganismos são altamente variáveis, com algumas espécies afetadas com 0,1 mg/L e outras com 100 mg/L. Efeitos sobre espécies diferentes não variam consistentemente com o grau de cloração das misturas, ou condição ambiental e toxicidade, mesmo para organismos estreitamente relacionados (WHO, 1993).

3.3. TECNOLOGIAS EMPREGADAS NA DEGRADAÇÃO E DESCONTAMINAÇÃO DE PCBs

A destruição de bifenilas policloradas exige o rompimento das ligações moleculares obtidas por meio da adição de energia térmica ou química (UNEP, 2004). Devido a sua alta estabilidade molecular, os PCBs apresentam certa resistência a processos de degradação, exigindo métodos específicos de descontaminação. A degradação por processos naturais é também um importante mecanismo na descontaminação de PCBs, a presença de microrganismos capazes

de metabolizar os PCBs e as condições nutricionais e ambientais favoráveis são fatores fundamentais para a ocorrência desses processos (PENTEADO; VAZ, 2001).

A busca por alternativas eficazes e economicamente viáveis, no tratamento de resíduos contendo bifenilas policloradas se justifica diante dos custos elevados associados a técnicas de remediação comumente utilizadas (Tabela 3.4).

Tabela 3.4 – Custo médio do tratamento de resíduos de PCBs

Resíduo	Custo* (US\$/ton)
Óleos contendo PCBs	30 a 3700
Equipamento metálico contendo PCBs	620 a 3000
Equipamentos não-metálicos contaminados	370 a 3870
Transformadores	175 a 3000
Capacitores	960 a 2300
Sólidos contaminados por PCBs	310 a 1850
Solos, lodos, resíduos contaminados por PCBs	120 a 1850

Fonte: UNEP (2004). * Valores referentes a 2004

3.3.1. INCINERAÇÃO

A tecnologia de tratamento utilizada com maior frequência na destruição de PCBs é a incineração. Desde que realizada corretamente, a incineração aparece como alternativa altamente eficiente na destruição de PCBs, com valores de eficiência da ordem de 99,9999% ou mais. O grande inconveniente deste método é

a necessidade de controle rigoroso das condições da queima, sob risco de emissão de substâncias nocivas como dioxinas e furanos (UNEP, 2004).

Os principais produtos de incineração a altas temperaturas são o dióxido de carbono e água, e o principal resíduo gerado são as cinzas inorgânicas. O cloro presente é convertido em cloreto de hidrogênio gasoso, que deve ser removido, juntamente com outros compostos nocivos formados como subprodutos da combustão, em sistemas de controle de poluição do ar. A eficácia da incineração é uma função do tempo de residência, temperatura, turbulência e concentração de oxigênio (OSPAR, 2001; UNEP, 2004).

O uso de fornos de cimento na incineração de resíduos apresenta vantagens significativas no tratamento de resíduos contaminados. A fabricação de cimento requer um combustível para aquecer a mistura agregada, e os resíduos com valor calórico adequado podem ser usados como combustíveis adicionais no processo. Resíduos de solventes clorados podem ser alimentados no forno, como suplemento de combustível e materiais sólidos podem ser incorporados em pontos intermediários do forno. A grande vantagem desse tipo de abordagem é que os resíduos sólidos são incorporados ao produto, evitando a geração de resíduos (UNEP, 2004).

3.3.2. DESCLORAÇÃO QUÍMICA

Existem diversas técnicas de descloração química de compostos clorados, sendo uma delas a reação com sódio metálico. O teor de cloro é convertido em sais inorgânicos, que podem ser removidos da fração orgânica por filtração ou centrifugação. As reações ocorrem sob atmosfera inerte (para evitar o risco de

incêndio) e na ausência de água (resíduos são pré-secados por aquecimento) (UNEP, 1998).

Outros processos, como por exemplo, a hidrodessorção catalítica, podem ser eficientes no tratamento de resíduos de PCBs. Vale (2008) avaliou a hidrodessorção catalítica, com utilização de solventes orgânicos e paládio como catalisador para realizar a descloração de bifenilas policloradas.

3.3.3. BIODEGRADAÇÃO

A utilização de técnicas de biodegradação nada mais é que a aplicação de processos naturais de degradação pela ação de microrganismos, que atuam acelerando as reações através de seu aparato enzimático. Essa possibilidade depende da ampla diversidade genética e versatilidade metabólica dos microrganismos para realizar os processos de transformação de compostos, especialmente tóxicos, em compostos menos tóxicos, de menor prejuízo ao ambiente.

As duas principais formas de biodegradação envolvem a utilização direta pelos microrganismos do composto tóxico como fonte de carbono, por meio da mineralização, ou como segunda fonte de carbono, no processo co-metabólico (BORJA et al., 2005). Fatores ambientais, tais como, temperatura, pH, presença de substâncias inibidoras ou tóxicas, disponibilidade de aceptores de elétrons e interações entre os microrganismos, influenciam diretamente nos processos de biodegradação. De forma similar, a estrutura do poluente, suas características físicas e sua concentração também estão diretamente relacionadas com a biodegradação (BORJA et al., 2005).

Microrganismos aeróbios têm sido relatados como possuidores de aparato oxidativo capaz de degradar bifenilas. Dentre esses microrganismos destacam-se *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Moraxella*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter* além de algumas cepas de fungos (ABRAMOWICZ, 1990; SEEGER; TIMMIS; HOFFER, 1997).

A maioria dos microrganismos aeróbios associados com a degradação de PCBs consegue metabolizar apenas os congêneres pouco clorados. A eficiência da degradação varia de acordo com a condição ambiental, além das características fisiológicas dos microrganismos e congêneres de PCB (ABRAMOWICZ, 1990; FURUKAWA; FUJIHARA, 2008; MANZANO et al., 2003).

Rojas-Avelizapa et al. (1999) verificaram remoção de 75% de PCBs de óleo de transformador emulsionado com Triton-X100 sem utilização de material suporte. Nessa condição foi usado extrato de levedura, como co-substrato e fonte de micronutrientes, além do óleo de transformador como fonte de carbono orgânico. Culturas isoladas de solos contaminados com PCBs contendo *Pseudomonas* sp., *Comamonas acidovorans*, *Achromobacter* sp. e *A. calcoaceticus* foram utilizadas no trabalho.

A utilização de microrganismos anaeróbios na descontaminação de resíduos contendo PCBs é recente e pouco estudada, uma vez que, a maior parte dos trabalhos é voltada para a degradação aeróbia. Sabe-se que sob condição anaeróbia ocorre a descloração redutiva de PCBs. Tal efeito diminui o potencial de bioacumulação, que é proporcional a presença de cloro na molécula, diminui sua toxicidade e facilita a biodegradação por outras vias. (ABRAMOWICZ, 1990; BROWN JR et al., 1987).

Van Dort e Bedard (1991) estudaram a descloração de congêneres específicos, utilizando sedimentos metanogênicos de rios e lagos contaminados por PCBs. Os autores prepararam inóculo em câmara anaeróbia com nitrogênio. No sistema reacional foi adicionado 2,3,5,6-tetraclorobifenila, inóculo e acetona. Os reatores foram incubados em estufa a 25°C com agitação. Nos reatores controle (esterilizados), não foram observadas alterações, enquanto, nos demais reatores com biomassa ocorreu descloração da 2,3,5,6-tetraclorobifenila, com posterior formação de 2,3,6-triclorobifenila e 2,5-diclorobifenila. A descloração foi subdividida em 2 etapas, sendo que na segunda delas, os autores observaram menor tempo de aclimatação. Além disso, cada etapa foi atribuída a uma determinada população. A eficiência de remoção de cloro nas posições *orto*, *meta* e *para* observada variou entre 21 e 92%. Os autores destacaram ainda que este foi o primeiro experimento a reportar remoção do cloro na posição *orto*.

Berkaw, Sowers e May (1996), em trabalho semelhante ao de Van Dort e Bedard (1991), avaliaram a descloração de congêneres específicos de bifenilas policloradas a partir de sedimentos do porto de Baltimore alimentados com meio estuarino. Os autores observaram a descloração nas posições *orto*, *meta* e *para*, com remoção de cloro superior a 90%. Os autores destacaram a ocorrência de descloração na posição *orto*, nunca antes reportada em sedimentos marinhos, indicando a possibilidade de utilização desse sedimento no tratamento de resíduos de PCBs. A descloração também foi avaliada na presença de sulfato, que vem sendo relacionado com a inibição da descloração. Na presença de sulfato foi observado aumento na fase *lag*, com descloração após 77 dias.

3.4. LEGISLAÇÃO

A partir de 1981, com a criação da portaria Interministerial nº 19 do Ministério do Meio Ambiente, IBAMA e Ministério de Minas e Energia, novas regulamentações para materiais contaminados com PCBs foram estabelecidas. A Instrução Normativa SEMA/STC/CRS nº 1 de 10 de junho de 1983 disciplina as condições a serem observadas no manuseio, armazenamento e transporte de bifenilas policloradas e/ou resíduos contaminados com tais compostos. Com intuito semelhante, 3 anos depois, a ABNT publica a Norma ABNT/NBR-8371.

No estado de São Paulo, foi promulgada a Lei nº 12.288 de 22 de fevereiro de 2006, que regulamenta a eliminação e descontaminação dos PCBs e todos os materiais contaminados até 2020. Segundo a lei, se enquadram como resíduos de PCBs ou materiais contaminados por PCBs todos os materiais, líquidos ou sólidos cujo teor de PCBs, determinado pela Norma ABNT/NBR-13882, seja superior a 0,005% em peso (50 mg/kg).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho está dividido em duas etapas, na primeira foram realizados ensaios preliminares para determinação dos parâmetros de operação do reator anaeróbio, que consiste a segunda etapa. Os ensaios preliminares contemplaram a determinação do melhor solvente para o ascarel e a avaliação do potencial metanogênico em reatores batelada como medida indireta da interferência da de PCBs na degradação anaeróbia. Em todas as etapas foram realizadas

análises de microscopia. Na Figura 4.1 encontra-se delineado o fluxograma experimental do projeto.

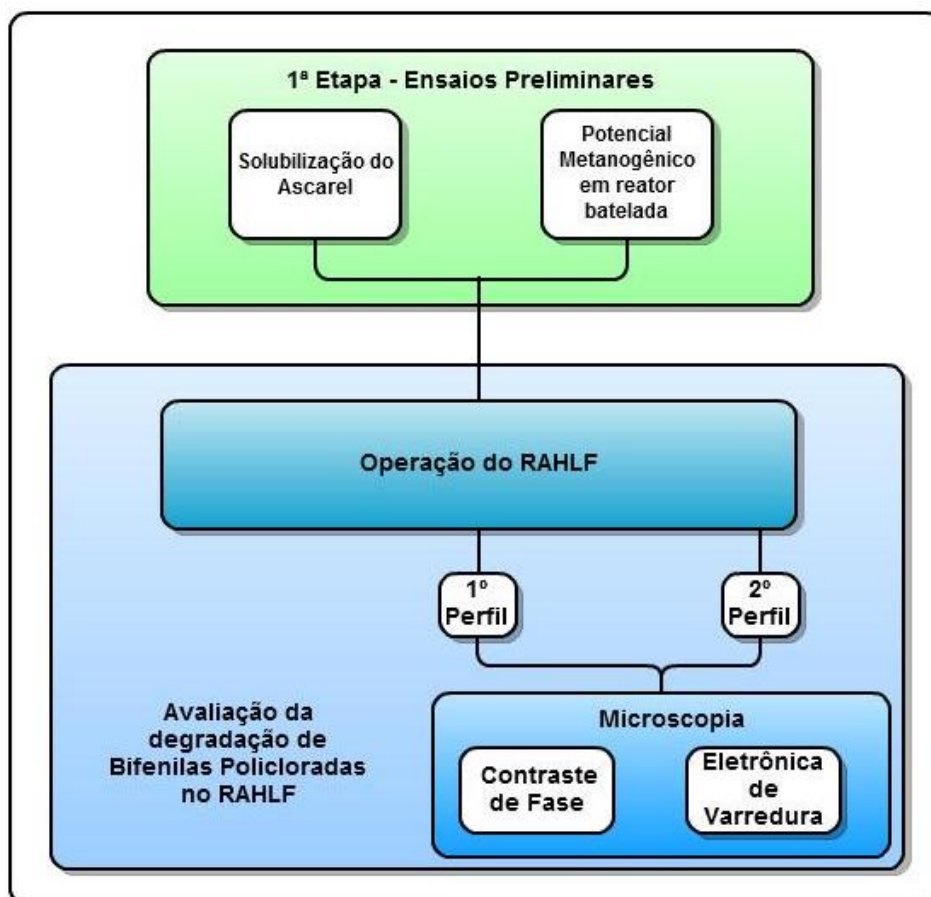


Figura 4.1 – Fluxograma Experimental

4.1. ASCAREL

Os PCBs utilizados neste trabalho foram procedentes do ascarel, mistura de bifenilas policloradas (PCBs), e triclorobenzenos (TCBs), que é um óleo de coloração amarelo citrino, pouco viscoso e aparência límpida, proveniente da concessionária de fornecimento de energia elétrica BANDEIRANTES, situada na região de São José dos Campos (TR-01 ETD JAC – ref. ano 1977 fab. BB – tipo

TD3LF – n° série P 8775 NGE – TRTCM 30031). O óleo foi concedido para testes nos reatores anaeróbios. Segundo a fornecedora, a concentração de bifenilas estava abaixo do limite estabelecido pela Lei n° 12.288/2006 (<50 mg/Kg).

4.2. ENSAIOS PRELIMINARES

4.2.1. SOLUBILIZAÇÃO

A solubilização do ascarel em meios aquosos é muito baixa, devido às suas características hidrofóbicas, inviabilizando a realização dos experimentos, uma vez que o ascarel não solubilizado fica indisponível para uso, compondo um meio em fases que dificulta a amostragem e interfere na confiabilidade dos resultados.

Sendo assim, fez-se necessária a utilização de um solvente adequado para solubilizar o ascarel, permitindo a realização dos experimentos. Esse solvente deve ter características tais que não o façam competidor ou inibidor na degradação de bifenilas, além disso, outros fatores como custo, facilidade de acesso e toxicidade, também são importantes e podem inviabilizar seu uso.

Para a escolha do solvente foi realizado ensaio com diferentes solventes. (Tabela 4.1).

Em frasco de vidro (12 mL), colocou-se 0,5 mL de ascarel e 1 mL de solvente. O frasco foi fechado com tampa de teflon e submetido à agitação, em vórtex. Em seguida, observou-se a solubilização. Prosseguiu-se com adição de 10 mL de meio de cultura, e novamente, a solubilização foi verificada.

Tabela 4.1 – Composição do ensaio

Reator	Solvente (1,0 mL)	ascarel (0,5 mL)
1	Controle	+
2	DMSO	+
3	Dioxano	+
4	SDS (10%)	+
5	Tween 80	+
6	Ácido Fórmico	+
7	Ácido Acético	+
8	Metanol	+
9	Hexano / Acetona (1:1)	+
10	Etanol	+
11	Triton X-100 (10%)	+
12	Triton X-100 (1%)	+
13	Triton X-100 (0,1%)	+
14	Triton X-100 (0,01%)	+
15	Acetona	+
16	Hexano	+

A última etapa consistiu na adição de espuma de poliuretano, que é utilizada como meio suporte para o RAHLF. Para tanto, 0,15 g de espuma foram pesados (valor obtido por relação direta a partir da quantidade a ser utilizada no RAHLF: 30 g para 2 L de volume do reator). Os tubos com espuma receberam o meio de cultura e foram submetidos à agitação em vórtex e posterior agitação lenta em estufa (150 rpm) e temperatura de 30° C durante 12 horas.

4.2.2. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL METANOGÊNICO EM REATORES EM BATELADA

Nesta etapa foi avaliada a produção de metano nos reatores operados em batelada alimentados com ascarel sob condição metanogênica. O ensaio foi realizado em triplicata, três co-substratos foram testados: etanol (460 mg/L), formiato de sódio (680 mg/L) e acetato de sódio (820 mg/L). Como meio suporte foi usado espuma de poliuretano em cubos com 5 mm de aresta, densidade de 0,023 g/cm³ e área superficial de 43,8 m²/g, (obtido pelo laudo CCDM – UFSCar – Certificado de ensaio AMP05 – 000129). Lodo de reator anaeróbico de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB), empregado no tratamento de água residuária de abatedouro de aves foi utilizado como inóculo para o ensaio.

A partir dos dados obtidos no ensaio de solubilização, optou-se pela utilização dos seguintes solventes para a solubilização do ascarel: Metanol, Triton X-100 e Ácido Fórmico. A composição dos reatores em batelada encontra-se descrita na Tabela 4.2.

Os reatores foram confeccionados em frascos antibiótico de 100 mL com volume reacional de 50 mL, atmosfera de N₂/CO₂ (70%:30%), vedados com tampas de Teflon e lacres de alumínio, de acordo com as técnicas de manipulação de microrganismos anaeróbios descrita por Vazoller (1995). Na Figura 4.2 está esquematizado o reator operado em batelada.

Tabela 4.2 – Composição dos reatores em batelada

Reator	Meio suporte (0,62 g)	Inóculo (mL)	Meio Angelidaki (mL)	Solução Redutora de sulfeto de sódio 5% (mL)	Solvente (0,5 mL)	Ascarel (mL)	Co-substrato 10mM (0,3 + 0,3 mL)
1 (Branco)	Espuma	5	44,7	0,3	-	-	-
2 (Branco)	Espuma	5	43,6	0,3	-	0,5	Formiato, Etanol
3	Espuma	5	43,1	0,3	Metanol 1,6 g/L	0,5	Formiato, Etanol
4	Espuma	5	43,1	0,3	Metanol 790 mg/L	0,5	Formiato, Etanol
5	Espuma	5	43,1	0,3	Metanol 395 mg/L	0,5	Formiato, Etanol
6	Espuma	5	43,1	0,3	Triton X- 100 10% (1:1)	0,5	Formiato, Etanol
7	Espuma	5	43,1	0,3	Triton X- 100 10% (1:10)	0,5	Formiato, Etanol
8	Espuma	5	43,1	0,3	Ác. Fórmico 1,2 g/L	0,5	Acetato, Etanol
9	Espuma	5	43,1	0,3	Ác. Fórmico 600 mg/L	0,5	Acetato, Etanol

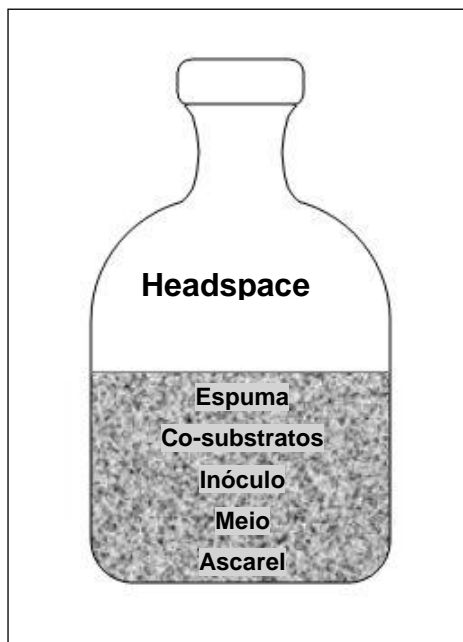


Figura 4.2 – Esquema dos reatores em batelada

Os frascos reatores contendo meio de cultura Angelidaki (ANGELIDAKI *et al.* 1990), inóculo e espuma de poliuretano, foram incubados em estufa com agitação orbital a temperatura de $30\pm 1^{\circ}\text{C}$. Análises de metano acumulado foram realizadas em cromatógrafo gasoso GC Gow Mac – Series 150, equipado com detector de condutividade térmica e coluna de aço inox Poropak Q, de 1/8" X 2m, com temperatura do injetor igual a temperatura da coluna de 50°C , temperatura do detector de 80°C e volume de amostra de $1000\ \mu\text{L}$ (1,0 mL).

Após a fase de esgotamento da matéria orgânica presente no inóculo, acompanhada por meio da estabilização da produção de metano, foram adicionados ascarel, solventes e fontes de carbono. As medidas da produção de metano foram realizadas a cada duas horas no primeiro dia, a cada 3 horas no segundo dia e depois três vezes ao dia (manhã, tarde e noite).

Os ajustes dos dados da produção de metano por sólidos totais voláteis foram realizados utilizando-se o programa Microcal Origin[®] através da sigmóide de

Boltzmann, utilizando o algoritmo de otimização de Levenberg-Marquardt e posterior análise diferencial para determinar a máxima velocidade de produção de metano.

A análise de sólidos totais voláteis (STV) foi realizada de acordo com APHA (1999) para a amostra do inóculo. Devido à toxicidade do ascarel não foi possível proceder a análise da biomassa nos reatores que continham ascarel, após a realização dos ensaios.

Após 7 e 14 dias do ensaio foram realizadas análises de microscopia de contraste de fase nos reatores visando verificar a diversidade morfológica de bactérias nas amostras de material suporte dos reatores, ao longo do tempo de incubação.

4.3. RAHLF

O reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) foi confeccionado em vidro boro-silicato com 100 cm de comprimento (L) e 5 cm de diâmetro interno (D), com relação comprimento por diâmetro (L/D) de 20 e volume total de 2000 mL (Figura 4.3).

O reator foi instalado no Laboratório de Processos Biológicos (LPB) em câmara climatizada ($30\pm 1^{\circ}\text{C}$). Na parte superior foram colocados pontos de amostragem para coleta e saída de gás. Ao longo do comprimento do reator foram instalados cinco pontos de coleta, colocados em posições correspondentes a L/D de 1, 5, 10, 14, 19, para a retirada de amostras líquidas e de biomassa imobilizada. Após a instalação, foi realizado teste hidráulico para verificar todo o sistema buscando vazamentos e para calibração da rotação da bomba.

O tempo de detenção hidráulica (TDH) foi de 24 horas, baseado no volume útil de 800 mL. A alimentação foi realizada através de bomba peristáltica (Minipuls 3[®], Gilson[®]). A vazão utilizada foi de 33,3 mL/h. O reator foi alimentado com meio nutriente, etanol e formiato, além de ascarel emulsionado em Triton X-100. O frasco de alimentação foi mantido sob agitação (200 rpm) refrigerado a 4°C.

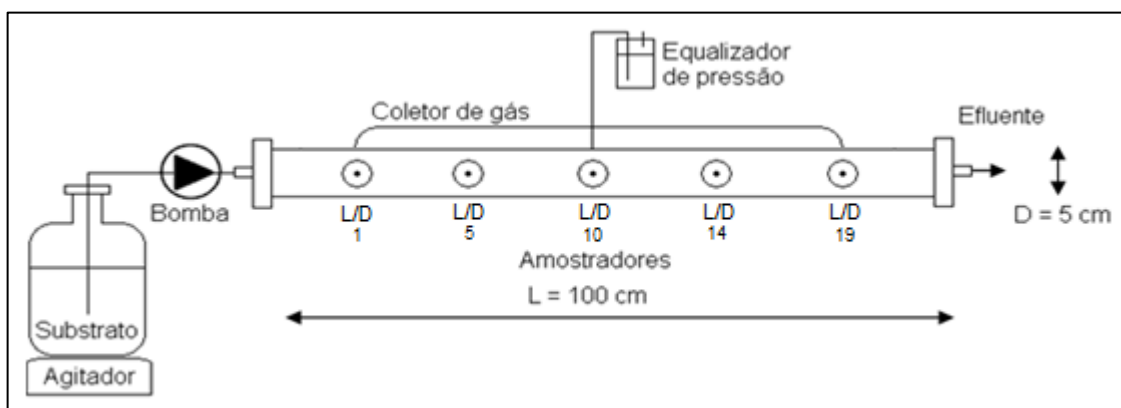


Figura 4.3 – Esquema do reator anaeróbio (RAHLF) em escala de bancada

4.3.1. MEIO SUPORTE

Como meio suporte para crescimento aderido da biomassa foi utilizada espuma de poliuretano, com densidade aparente de 23 kg/m³, porosidade próxima a 95% e raio de esfera equivalente (R_{eq}) igual a 0,31. O suporte foi cortado em cubos de aresta de aproximadamente 5 mm. O reator anaeróbio recebeu aproximadamente 30 g de espuma (massa seca).

4.3.2. INÓCULO

Lodo de reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB), empregado no tratamento de água residuária de abatedouro de aves (Avícola Dacar – Tietê, SP) foi utilizado como inóculo para o RAHLF. O lodo foi homogeneizado e liquefeito em misturador doméstico e submetido à atmosfera de N₂ (100%) durante 10 minutos, antes de sua utilização. Para inoculação do RAHLF, a massa de lodo foi misturada com o suporte (espuma) em frasco apropriado e depois de 24 horas foi empacotada no reator de acordo com metodologia descrita por Zaiat, Cabral e Foresti (1994).

4.3.3. MEIO DE NUTRIENTES

Para a realização dos experimentos foi usado meio de cultivo Angelidaki (ANGELIDAKI et al., 1990), preparado de acordo com as técnicas de manipulação de microrganismos anaeróbios descrita por Vazoller (1995) (Tabela 4.3 e Tabela 4.4). Além disso, foram adicionados 4 mL de ascarel solubilizado em 4 mL de Triton X-100 (10%), para volume total de meio de alimentação de 4 L. Os co-substratos utilizados foram o etanol (460 mg/L) e formiato de sódio (680 mg/L).

Tabela 4.3 – Composição do Meio Basal

Componente	C_{solução} (mg/L)
<u><i>Solução A</i></u>	
NH₄Cl	1000
NaCl	100
MgCl₂·6H₂O	100
CaCl₂·2H₂O	50
<u><i>Solução B</i></u>	
K₂HPO₄·3H₂O	400
<u><i>Solução C (metais traços e selenito)</i></u>	
FeCl₂·4H₂O	2
H₃BO₃	0,05
ZnCl₂	0,05
CuCl₂·2H₂O	0,038
MnCl₂·4H₂O	0,05
(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O	0,05
AlCl₃	0,05
CoCl₂·6H₂O	0,05
NiCl₂·6H₂O	0,092
EDTA	0,5
HCl concentrado	1 µL/L
Na₂SeO₃·5H₂O	0,1
Solução tampão (NaHCO₃)	0,5

Fonte: Angelidaki et al. (1990)

Tabela 4.4 – Solução de Vitaminas

Componente	C_{solução} (mg/L)
Ácido fólico	0,020
Ácido p-aminobenzóico	0,050
Ácido pantotênico	0,050
Ácido tióico	0,050
Biotina	0,020
Vitamina B1 (Tiamina)	0,050
Vitamina B2 (Riboflavina)	0,050
Vitamina B5 (Nicotinamida)	0,050
Vitamina B6 (Piridoxina)	0,100
Vitamina B12 (Cianocobalamina)	0,0002

Fonte: Wolin et al. (1963)

4.4. ANÁLISES

4.4.1. FÍSICO-QUÍMICAS

O controle da operação do reator foi realizado continuamente através das análises físico-químicas, cromatográficas, de perfil e dos exames microscópicos. Na Tabela 4.5 estão descritas as análises e as frequências de realização durante o período de operação do RAHLF. Parâmetros, tais como, pH, ácidos voláteis e DQO foram analisados duas vezes por semana. Análises de PCBs, alcalinidade e metano

foram realizadas uma vez por semana. Análises de perfil foram realizadas bimestralmente, e contarão além das análises citadas de exames microscópicos.

Tabela 4.5 – Descrição e frequência das análises

Parâmetro	Método	Frequência das análises	Referência Bibliográfica
Ácidos Totais Voláteis (mgHAc/L)	Titulométrico	1 x semana	Dillalo e Albertson (1961)
Ácidos Voláteis (mg/L)	Cromatográfico (CL)	2 x semana	Moraes et al. (2000)
Alcalinidade (mgCaCo3/L)	Titulométrico	1 x semana	Dillalo e Albertson (1961) modificado por Ripley et al. (1986)
DQO bruta (mg/L)	Espectrofotométrico	2 x semana	APHA (1999)
Metano (µmol/L)	Cromatográfico (CG)	1 x semana	-
pH	Potenciométrico	2 x semana	APHA (1999)
Vazão (mL/h)	Volumétrico	Diariamente	-

4.4.2. PCBS

A determinação de PCBs foi realizada em cromatógrafo gasoso Hewlett-Packard, 5890 series II equipado com detector de captura de elétrons (ECD) – coluna capilar Elite – 5 Perkin Elmer (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm). Temperatura inicial do forno: 100 °C a 160 °C (2 minutos), a 15 °C/min até 235 °C a 270°C (36 min.) a 5 °C/min. Temperatura do injetor 280 °C (*splitless*) e do detector (300 °C).

4.4.2.1. EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

A preparação das amostras para extração de PCBs foi realizada pelo método proposto por Quensen, Tiedje, Boyd (1988) e adaptado para o experimento. As amostras (10 mL) foram extraídas em 5 mL de hexano:acetona (9:1) sob agitação em vórtex (1 minuto). Adicionou-se à amostra 5 mL de *n*-Hexano e 2 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄ 30%) e procedeu-se à agitação em vórtex por mais 1 minuto, em seguida a amostra foi submetida a banho de ultrassom por 15 minutos.

A purificação do extrato foi realizada em coluna de vidro (pipeta Pasteur – 220 mm X 11 mm) contendo quatro partes (2,5 g) de Florisil (100 mesh) e uma parte (25 %) de cobre em pó (60 mesh) para remover o enxofre. Adicionou-se a coluna 0,6 g de Silica Gel, previamente ativada com *n*-Hexano (Figura 4.4).

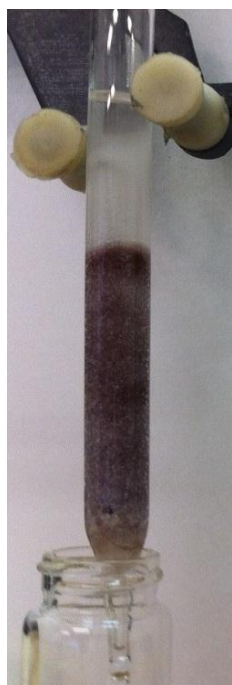


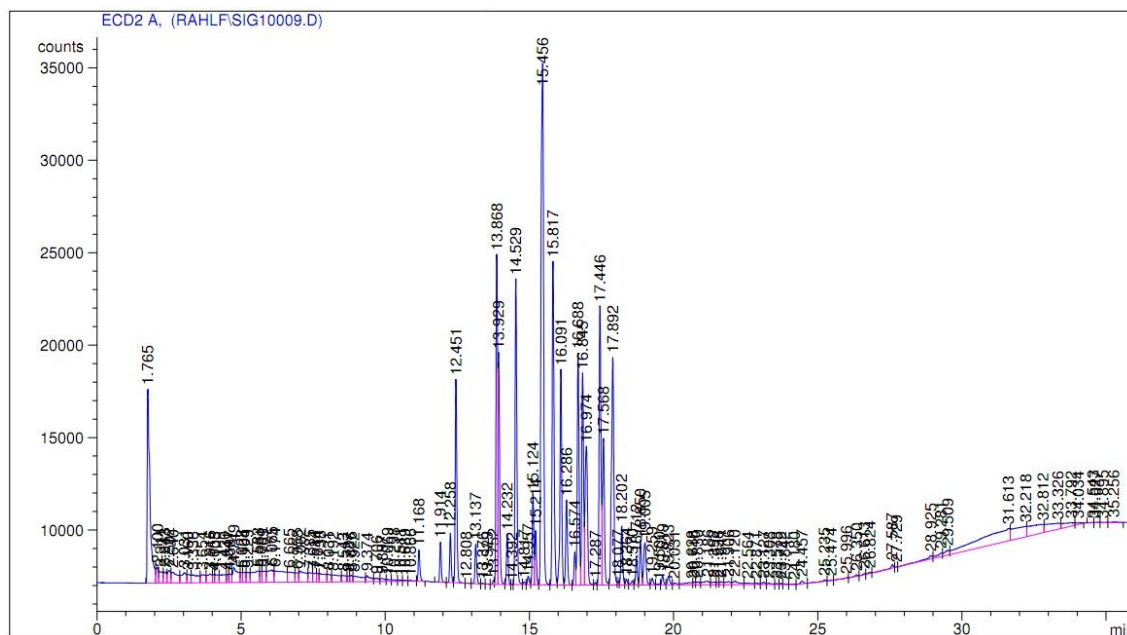
Figura 4.4 – Coluna de extração

Após pesado, o cobre foi previamente preparado para uso na coluna, lavado com H₂SO₄ (10 %), em seguida com água ultra purificada e por último com acetona. Para secagem foi filtrado em sistema a vácuo (funil de büchner e membrana celulósica RC - Vliesverstärkt – 0,2 µm – 47 mm).

As amostras foram eluídas na coluna com *n*-hexano e o volume foi ajustado por evaporação em 2 mL; 50 µL de octacloronaftaleno (0,8 mg/L) foi adicionado como padrão interno antes da injeção em cromatógrafo gasoso sendo o volume de injeção de 2 µL.

4.4.2.2. CURVA DE CALIBRAÇÃO DE PCBS

A curva de calibração foi realizada com base no método EPA VICTORIA 6013 e na NBR 13882. A concentração de PCBs foi estimada em termos da concentração total dos diferentes congêneres presentes nas misturas utilizadas. Mistura de dois padrões de Aroclor 1016 e 1260 (Sigma Aldrich) foi utilizada, por representarem a maioria dos picos dos outros Aroclor existentes nas misturas comerciais, com cloração baixa (Figura 4.5) e alta (Figura 4.6).



partir do somatório das áreas obtidas. Devido à grande quantidade de picos nos cromatogramas, aqueles com área muito baixa foram desconsiderados.

4.4.3. EXAMES MICROSCÓPICOS

Exames microscópicos foram realizados no reator anaeróbio e nos reatores em batelada visando verificar a diversidade morfológica de bactérias nas amostras de material suporte do reator. As amostras do RAHLF foram coletadas nos diferentes pontos de amostragem (L/D de 1, 5, 10 e 14).

4.4.3.1. MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASE

As observações foram realizadas em microscopia de contraste de fase e fluorescência, utilizando-se microscópio *Olympus*[®] BX60-FLA com câmera acoplada para captura de imagem (*Media Cybernetics Inc.*, USA) e software *Image Pro-Plus*[®] versão 4.5.

Para observação sob microscopia de contraste de fase foi utilizada a técnica de preparação de lâminas descrita pela DSM² (1991 apud VAZOLLER 1995). Solução ágar 2% (aquecida por aproximadamente 1 minuto em forno micro-ondas) foi distribuída sobre a lâmina de vidro. Após solidificação do ágar foi colocada alíquota da amostra e recoberta com lamínula.

² DSM (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GMBH-DSM) (1991) Curso: Scientific services of culture collections - The DSM experience, Fundação Tropical de Pesquisas "André Tosello" - Campinas, SP

A construção das tabelas de caracterização morfológica foi realizada a partir da observação de até 15 fotografias de campos aleatórios e em seguida foram estimadas visualmente as frequências de cada morfologia.

4.4.3.2. ELETRÔNICA DE VARREDURA

As amostras do RAHLF foram analisadas em microscópio eletrônico de varredura. Cubos de espuma de poliuretano foram retirados do reator e colocados *over night* em geladeira, numa solução de 2,5 mL GTA em tampão fosfato (0,1 M pH 7,3); lavados por 3 vezes em solução tampão fosfato (0,1 M) pH 7,8 por 10 minutos; desidratadas com álcool na sequência, todas por 10 minutos – álcool 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 100%; colocadas em suporte próprio para MEV e colados com base de unha (ARAÚJO, 2001). As amostras foram armazenadas em estufa com temperatura inferior a 60 °C. Posteriormente, as amostras foram submetidas a banho de ouro. A micro análise (EDX) utiliza a mesma metodologia para a microscopia eletrônica, portanto nenhum tratamento adicional foi realizado. As análises foram realizadas primeiramente no Instituto de Física de São Carlos (IFSC) e posteriormente no Laboratório de Caracterização Estrutural do Departamento de Engenharia de Materiais da (LCE/DEMA) UFSCar.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. SOLUBILIZAÇÃO

Este ensaio foi realizado para eleger um solvente apropriado para ser utilizado juntamente ao ascarel na alimentação do RAHLF. Análise prévia visual foi realizada e constatou-se que após adição e agitação ocorria solubilização para o DMSO, dioxano, hexano e acetona. Todavia, não ocorreu solubilização após adição de metanol, etanol, ácido acético e fórmico, onde era visível a separação de fases, como mostra a Figura 5.1.

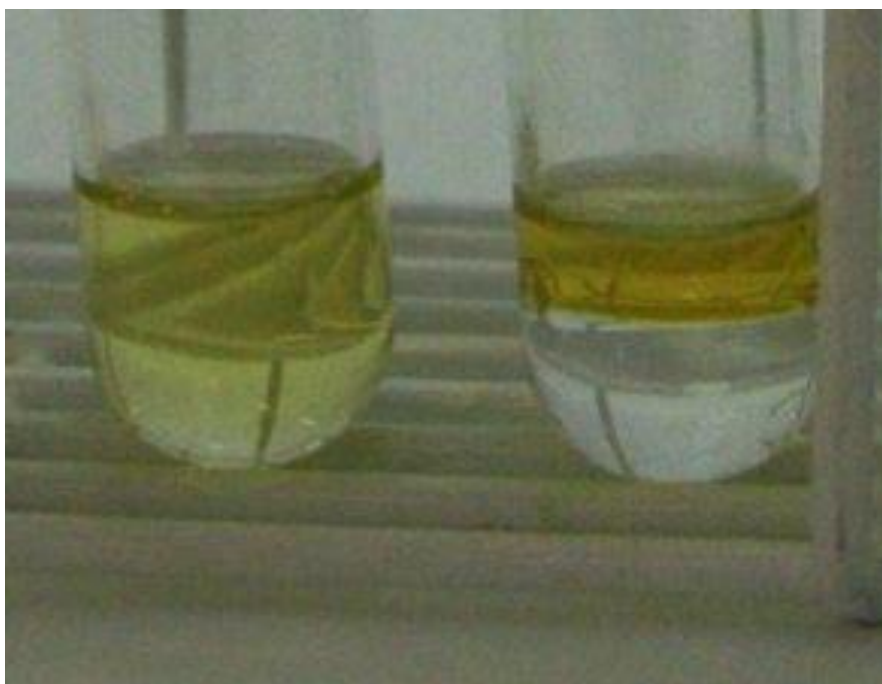


Figura 5.1 – Exemplo de solubilização e separação de fases: frasco a esquerda – solventes orgânicos, completa solubilização – frasco a direita – álcoois e ácidos, separação das fases

Procedeu-se, então, adição do meio de nutrientes e do material suporte. Após essa etapa não houve separação de fases, resultado que aponta para a ocorrência de adsorção do ascarel na matriz da espuma. Os resultados da solubilização do ascarel estão sintetizados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Solubilidade do ascarel

Reator	Solvente	(1,0 mL)	Solubilização		
			Agitação		Após Adição do meio
			Antes	Após	
1	Controle			+	
2	DMSO			+	
3	Dioxano		+	+	
4	SDS (10%)			+	+
5	Tween 80			+	+
6	Ácido Fórmico			+	
7	Ácido Acético			+	
8	Metanol			+	
9	Hexano/Acetona (1:1)		+	+	
10	Etanol			+	
11	Triton X-100 (10%)			+	+
12	Triton X-100 (1%)			+	+
13	Triton X-100 (0.1%)			+	+
14	Triton X-100 (0.01%)			+	±
15	Acetona		+	+	
16	Hexano		+	+	

A análise dos resultados obtidos aponta para a utilização de um surfactante como solvente, todos os surfactantes testados foram eficientes na solubilização do ascarel. De acordo com os resultados em trabalhos de Fava (1996), a descloração de bifenilas foi mais efetiva quando Triton X-100 era adicionado às culturas, pois o surfactante pode aumentar a biodisponibilidade do PCB. Baseado nos resultados e na literatura optou-se pelo Triton X-100 para utilização nos ensaios seguintes.

5.2. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL METANOGÊNICO EM REATORES BATELADA

A escolha definitiva das condições de alimentação para o RAHLF foi obtida a partir deste ensaio. A remoção de PCBs foi avaliada indiretamente a partir da produção de metano, em reatores anaeróbios em batelada contendo fontes de carbono adequadas para o desenvolvimento de arqueias metanogênicas. Ascarel e diferentes solventes, metanol (1,6 g/L, 790 mg/L e 395 mg/L), Triton X-100 (10% e 1%) e ácido fórmico (1,2 g/L e 600 mg/L) foram usados nesses reatores.

A menor velocidade máxima específica de produção de metano por unidade de sólidos totais voláteis, foi observada no reator controle, $1,98 \times 10^{-4}$ μmol metano/mL.g STV, o que era esperado uma vez que este reator não recebeu fontes de carbono nem ascarel. Os reatores alimentados com Triton X-100 10% e ascarel (1:1) obtiveram velocidades específicas baixas, de $5,2 \times 10^{-4}$ μmol metano/mL.g STV, baixas velocidades específicas também foram obtidas nos reatores alimentados com ácido fórmico 1,2 g/L, $8,16 \times 10^{-4}$ μmol metano/mL.g STV.

O baixo desempenho desses reatores aponta para inibição no desenvolvimento de arqueias metanogênicas por excesso de fontes de carbono.

O melhor desempenho foi obtido nos reatores alimentados com ácido fórmico na concentração de 600 mg/L, onde a velocidade máxima específica foi de $3,82 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol metano/mL.g STV}$. Outra série de reatores com boa velocidade de produção foi a série alimentada com metanol, especificamente na concentração de 1,6 g/L, $2,83 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol metano/mL.g STV}$. O metanol em alta concentração não teve efeito inibidor, tóxico, uma vez que sua transformação em metano é simples, já no caso do ácido fórmico essa tendência não foi observada, as concentrações mais baixas de co-substratos levaram a velocidades específicas maiores.

O pico de produção de metano no reator com menor velocidade de produção (reator controle), aconteceu com 10 horas de ensaio, já para o reator com maior velocidade específica (ácido fórmico 600 mg/L) o pico ocorreu com quase 30 horas decorridas do início do ensaio. A maior parte dos reatores teve picos de produção entre 25 e 33 horas de ensaio.

A Figura 5.2 e a Tabela 8.1 apresentam os valores médios da produção de metano a partir da adição das fontes de carbono.

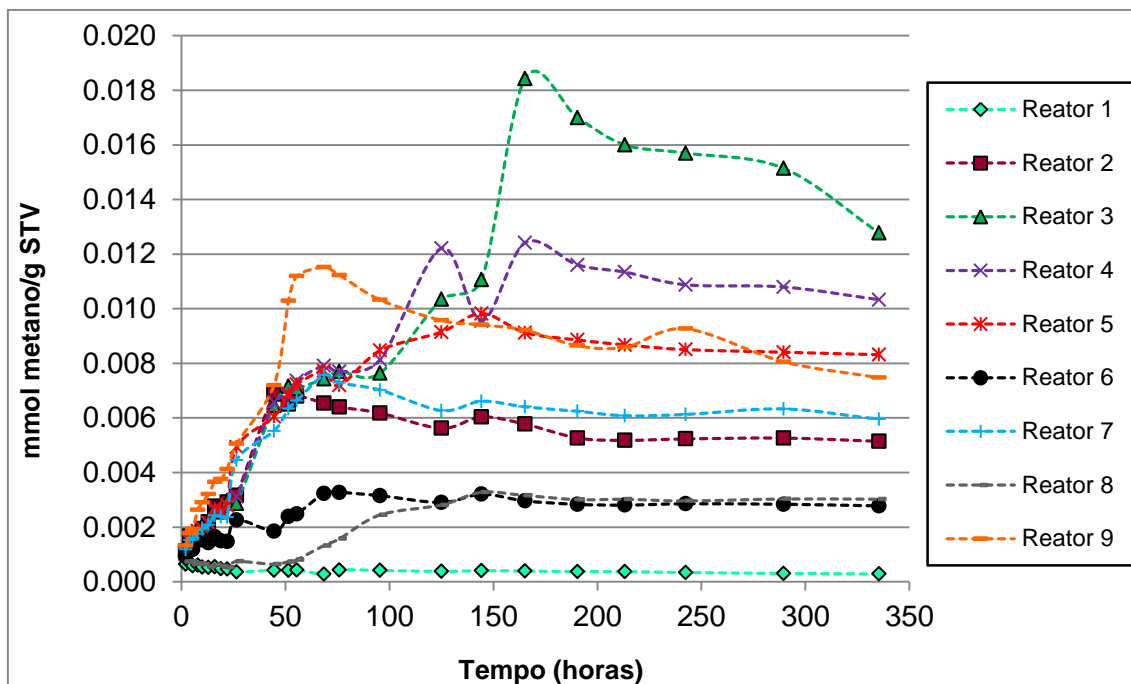


Figura 5.2 – Produção de metano em função do tempo

A análise do gráfico acima mostra o reator 9, com ácido fórmico 600 mg/L (linha laranja) com inclinações altas no início, indicando altas velocidades de produção. Outro reator que apresentou comportamento de alta velocidade de produção, foi o reator alimentado com metanol 1,6 g/L, este reator apresentou dois picos de produção, um com 33, outro com 160 horas (quase 7 dias) após o início do ensaio. Mais uma vez a alta disponibilidade de metanol e sua fácil conversão em metano foram fatores determinantes no comportamento deste reator.

Apesar de obter velocidade específica mediana de produção de metano, $2,53 \times 10^{-3} \mu\text{mol metano/mL.g STV}$, com pico em 30 horas, os reatores alimentados com Triton X-100 10% em baixa concentração (1:1) foram selecionados para a utilização no RAHLF. O fator determinante na escolha desta configuração foi a solubilização do ascarel. A biodisponibilidade do ascarel para utilização por parte dos microrganismos é fator essencial na escolha deste solvente, uma vez que se deseja analisar sua biodegradação.

5.3. RAHLF

O reator anaeróbio foi operado por 246 dias ininterruptos divididos em duas etapas. Na primeira etapa com duração de 76 dias avaliou-se a estabilização do sistema em relação à remoção de matéria orgânica, cuja composição foi de etanol (460 mg/L) e formiato de sódio (680 mg/L), sem ascarel. Após esse período foi adicionado ascarel e Triton X-100, por mais 170 dias de operação. Ao longo da operação foram realizados dois perfis espaciais no reator, o primeiro com 67 dias de adição de ascarel e o segundo após 155 dias da adição de ascarel. Durante o período de operação do reator ocorreu crescimento diferenciado da biomassa observado através da mudança de cor no interior do reator (Figuras 5.3 a 5.5).



(a)

(b)

Figura 5.3 – RAHLF – (a) Início da operação (b) Após 231 dias de operação

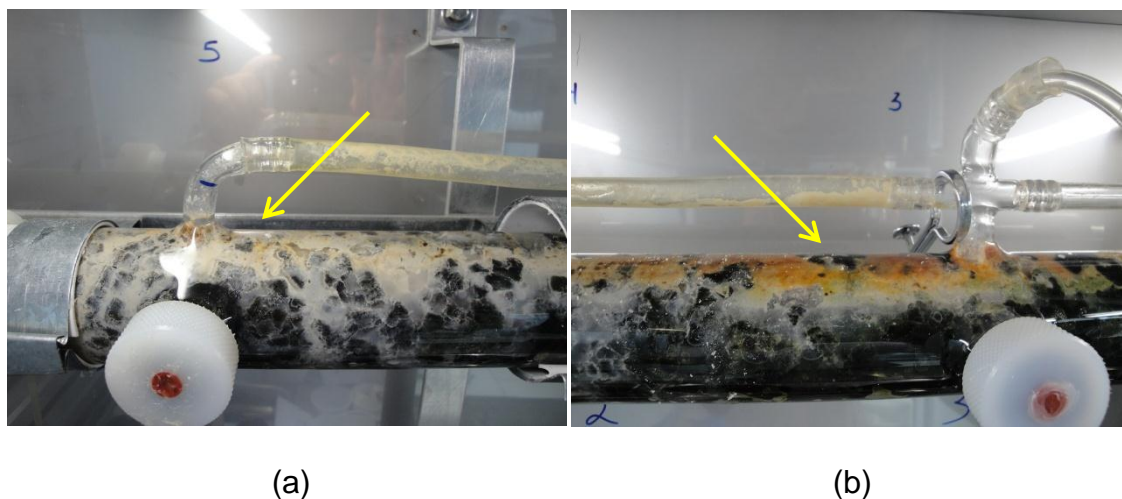


Figura 5.4 – Perfil Longitudinal do RAHLF – (a) $L/D = 1$ (b) $L/D = 10$

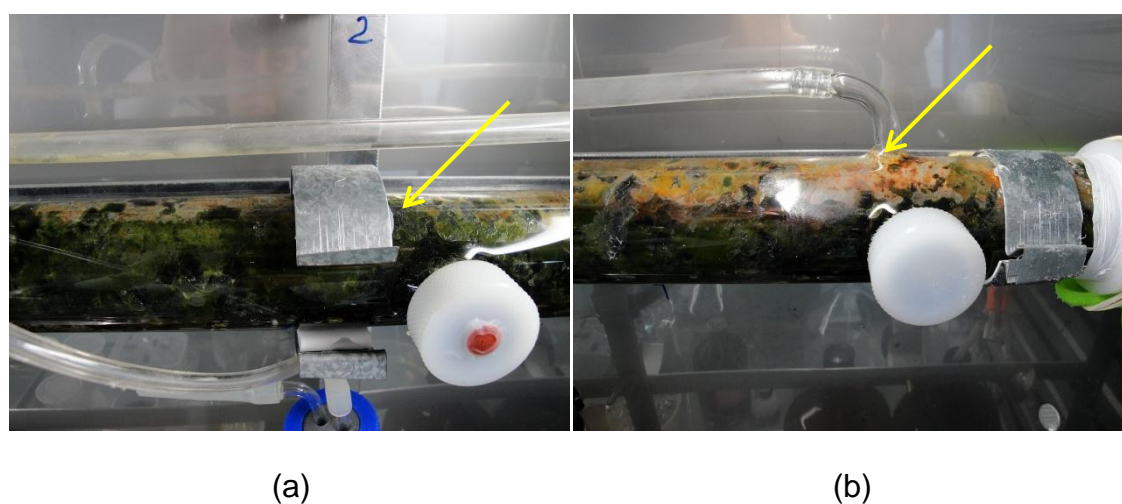


Figura 5.5 – Perfil Longitudinal do RAHLF – (a) $L/D = 14$ (b) $L/D = 19$

No início da operação o reator apresentava coloração escura, devido ao próprio lodo usado como inóculo. Ao longo do tempo de operação foi observado alteração da coloração da biomassa; ou seja, em $L/D = 1$ e $L/D = 5$ a cor predominante da biomassa era branca, enquanto, em $L/D = 10$ e $L/D = 19$ predominava a cor alaranjada. Observou-se ainda em alguns períodos coloração verde escura e presença de óleo não emulsionado na região próxima a $L/D = 14$.

As alterações observadas na coloração da biomassa, provavelmente, estiveram relacionadas com a colmatação do leito do reator pela adição de óleo e aumento da produção e acúmulo de polímero extra celular. Além disso, deve-se levar em consideração a característica hidrodinâmica de fluxo pistonado do reator, que favoreceu a estratificação do leito e crescimento diferenciado da biomassa.

O crescimento de biofilme alaranjado nas posições L/D 10 e L/D 19 pode estar relacionado com a presença de bactérias ferro redutoras. Holoman et al. (1998) trabalharam com o sequenciamento de amostras de material genético de microrganismos envolvidos na descloração de congêneres específicos de Aroclor sob diferentes condições. Os autores obtiveram diversas sequências entre elas *Clostridium litorale* (99%), *Desulfosarcina variabilis* (93%), *Dehalococcoides ethenogenes* (89%), *Pelobacter acidigallici* (86%), algumas semelhantes a bactérias ferro-redutoras e bactérias redutoras de sulfato, além de várias sequências com alta similaridade a arqueias metanogênicas.

A descloração de compostos orgânicos clorados a partir de bactérias ferro redutoras está restrita às condições ambientais específicas, sendo o ferro o principal regulador desse tipo de reação. A entrada de ferro no meio pode estar ligada a diferentes fontes, como o próprio meio de alimentação, através de FeCl_2 , outra fonte pode ser o próprio ascarel adicionado, uma vez que além de PCBs os óleos geralmente contêm contaminantes orgânicos e inorgânicos (WHO 1976).

Quanto aos parâmetros físico-químicos de acompanhamento, a variação temporal de DQO, pH, alcalinidade, metano e ácidos orgânicos voláteis para o período de operação estão apresentadas nas Figuras 5.6 a 5.10.

Alta eficiência de remoção de matéria orgânica foi obtida durante todo o período de operação (Figura 5.6). A remoção média de matéria orgânica durante o

período de estabilização foi de 96% para 2083 ± 476 mg/L afluente. Após 76 dias de operação passou-se a adicionar ascarel no meio de alimentação (4mL em 4000mL). Nesse período, a eficiência média foi de 90% para 1616 ± 292 mg/L afluente.

Verificou-se estabilidade da remoção de matéria orgânica no reator (Figura 5.6). Algumas variações foram observadas em pontos isolados, como exemplo, com 120 dias de operação, observou-se uma trinca no reator e procedeu-se a troca do leito e transferência da biomassa. Foi observado aumento na DQO efluente nesse dia. Outro fator importante observado durante a alimentação com ascarel foi a tendência de acúmulo de óleo, tanto no leito do reator, quanto nas mangueiras de alimentação. Desse modo observou-se instabilidade da emulsão entre Triton-ascarel.

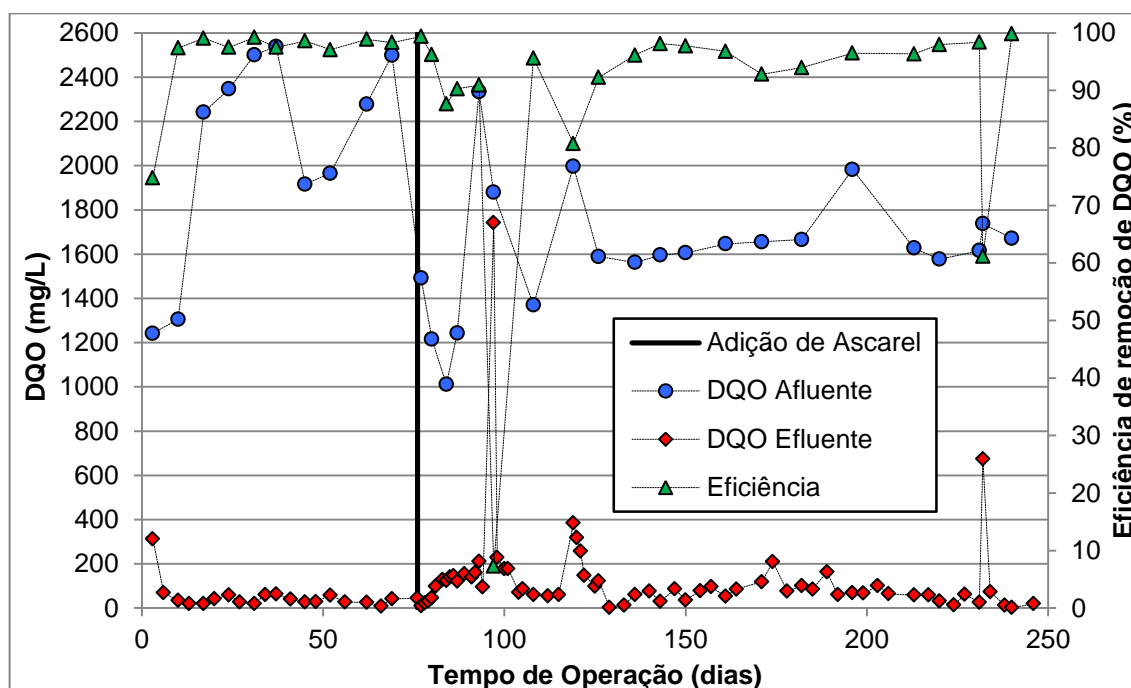


Figura 5.6 – Variação temporal da DQO afluente e efluente

O acúmulo de óleo observado resultou em descargas isoladas de óleo no efluente do reator. Essas descargas eram esporádicas e intermitentes, a frequência de ocorrência não era elevada, mas foi observado aumento na sua ocorrência com o passar do tempo de operação. As descargas de óleo no efluente influenciaram na análise de DQO; ou seja, as amostras se tornavam heterogêneas dificultando a leitura.

O acompanhamento do pH e alcalinidade são fundamentais em reatores anaeróbios, uma vez que desequilíbrio no tamponamento do meio pode levar ao colapso do reator. O pH efluente do reator se manteve praticamente constante durante todo o período de operação, as maiores oscilações foram observadas nos primeiros 24 dias de operação. Após esse período, não foi observada variação significativa. O valor médio para o período de estabilização foi de $7,72 \pm 0,19$ para pH efluente. Após adição de ascarel os valores médios, afluente e efluente, foram de $7,85 \pm 0,25$ e $7,77 \pm 0,12$, respectivamente (Figura 5.7).

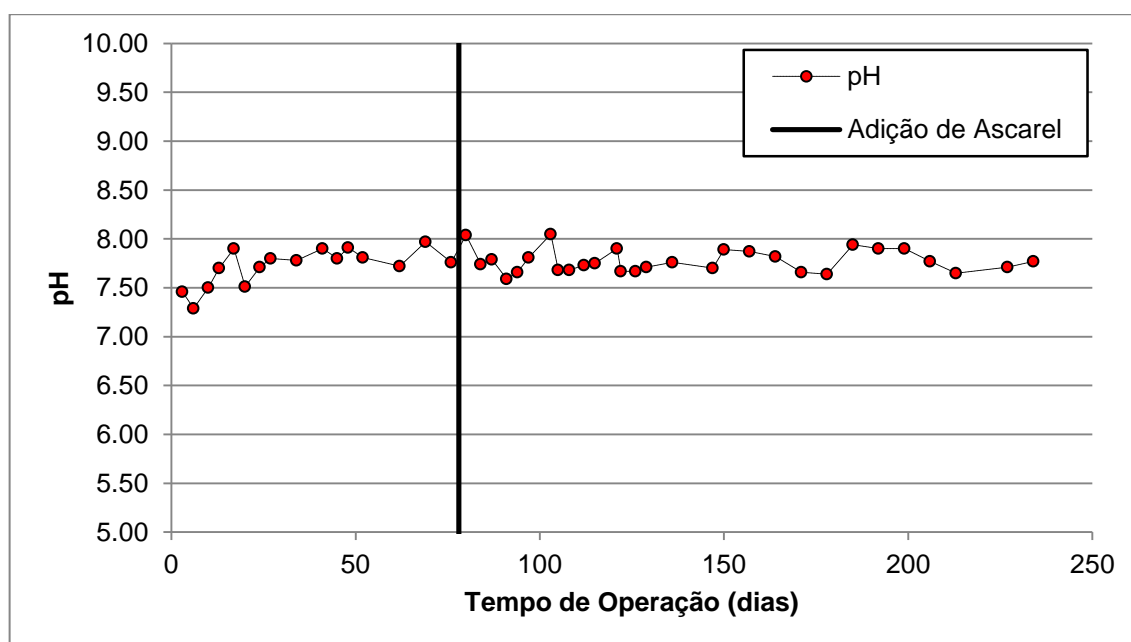


Figura 5.7 – Variação temporal do pH efluente

Os valores de alcalinidade efluente foram constantes, o valor médio para a fase de estabilização foi de 1.088 ± 290 mgCaCO₃/L, para a fase de alimentação com ascarel o valor foi de 1.109 ± 195 mgCaCO₃/L (Figura 5.8).

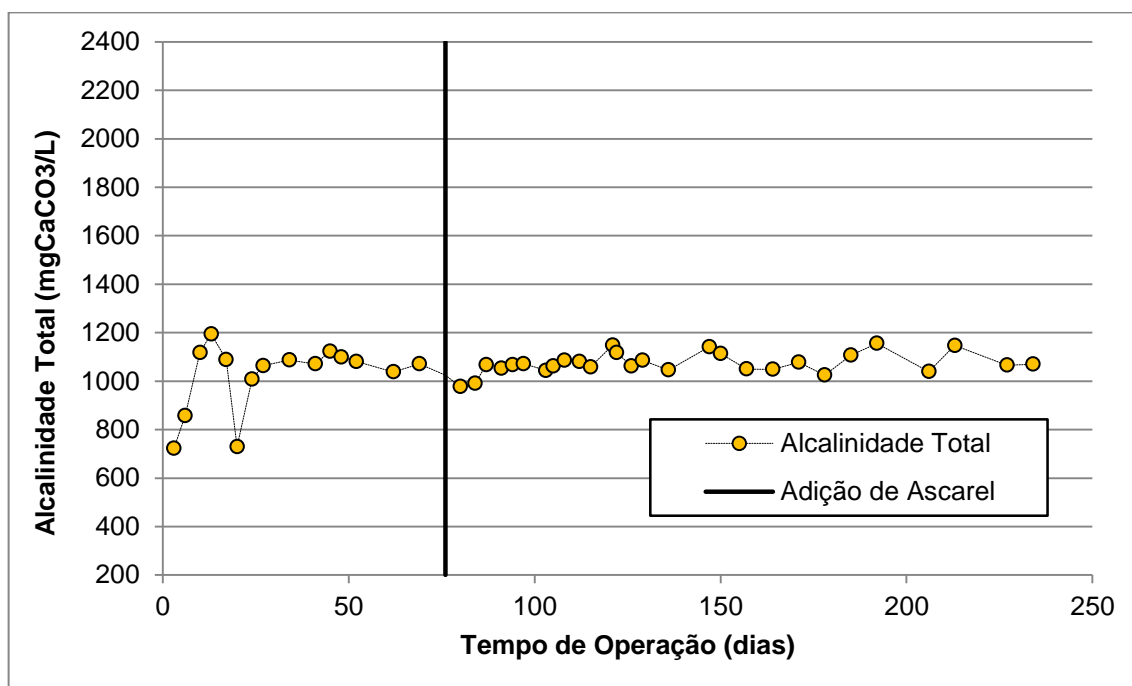


Figura 5.8 – Variação temporal de Alcalinidade

O funcionamento adequado de um reator anaeróbio depende fortemente do equilíbrio entre a produção e consumo de produtos intermediários da digestão, em especial os ácidos orgânicos. Tais ácidos são formados nas primeiras etapas da metabolização de compostos orgânicos e servem como produtos para etapas posteriores. O acúmulo desses ácidos devido ao desequilíbrio entre consumo e produção pode levar ao colapso do sistema. Os principais ácidos produzidos na fase acidogênica da digestão anaeróbia são o acético, propiônico e butírico.

Verificou-se ao longo do tempo de operação, para o efluente do reator, que todas as amostras continham ácido isobutírico com concentração média de

14,2 mg/L (Figura 5.9). Novamente, foi possível verificar o impacto da substituição do reator, após 120 dias de operação, devido a uma rachadura, a presença de diversos ácidos que antes não eram detectados no efluente aparecem nesse período. Por exemplo, foi detectado 45,7 mg/L de ácido acético, 24,0 mg/L de ácido capróico, 4,4 mg/L de ácido fórmico e 12,3 mg/L de ácido valérico. Após alguns dias de operação, esses ácidos não estiveram mais presentes nas amostras do efluente, indicando o reestabelecimento do equilíbrio dentro do reator. A presença de ácido isovalérico se tornou mais frequente após a substituição do reator. Antes este ácido só havia sido detectado com 91 dias de operação, todavia, o valor médio obtido foi de 13,8 mg/L ao longo de todo o período.

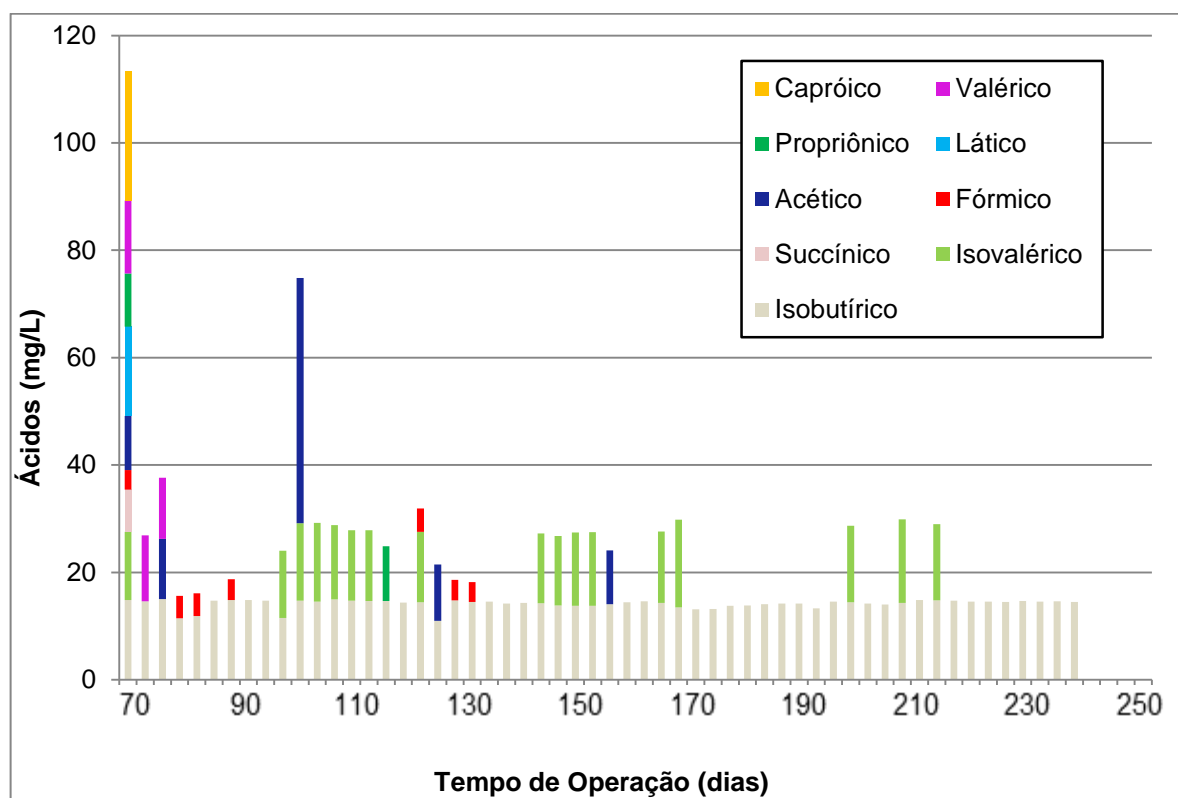


Figura 5.9 – Variação temporal de ácidos orgânicos

Durante a fase de operação sem ascarel, não foram constatados ácidos orgânicos no efluente, indicando provável consumo desses pelas bactérias anaeróbias e arqueias metanogênicas.

A produção de metano foi determinada a partir da coleta em três pontos distintos do reator, para L/D 1, 10 e 19 em sistema próprio de coleta de gases. Entre os pontos de coleta não houve variação significativa que demandasse tratamento espacial. Os valores obtidos nos diferentes pontos de coleta eram muito próximos (Figura 5.10).

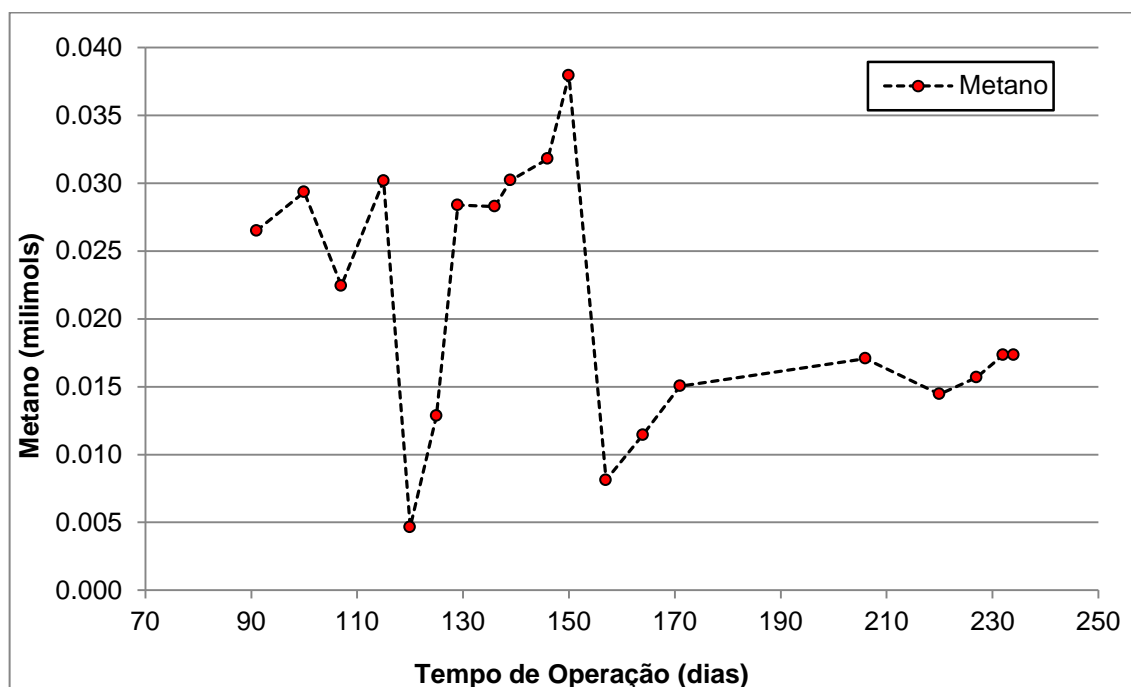


Figura 5.10 – Variação temporal da produção de metano

Analisando a variação temporal de metano no reator foi possível identificar dois patamares de produção distintos; sendo o primeiro entre 90 e 150 dias de operação, cujo valor médio foi de 0,024 milimols de metano. O segundo, após 160 dias até o final da operação, com valor médio de 0,017 milimols de metano. A

redução observada com 120 dias de operação está relacionada à troca do reator. Destaca-se que a produção foi rapidamente reestabelecida. Todavia, na fase de alimentação com ascarel observou-se reduzida quantidade de metano.

Análise da variação espacial do reator foi realizada com 63 dias e 155 dias de operação, após adição de ascarel (Figuras 5.11 e 5.12).

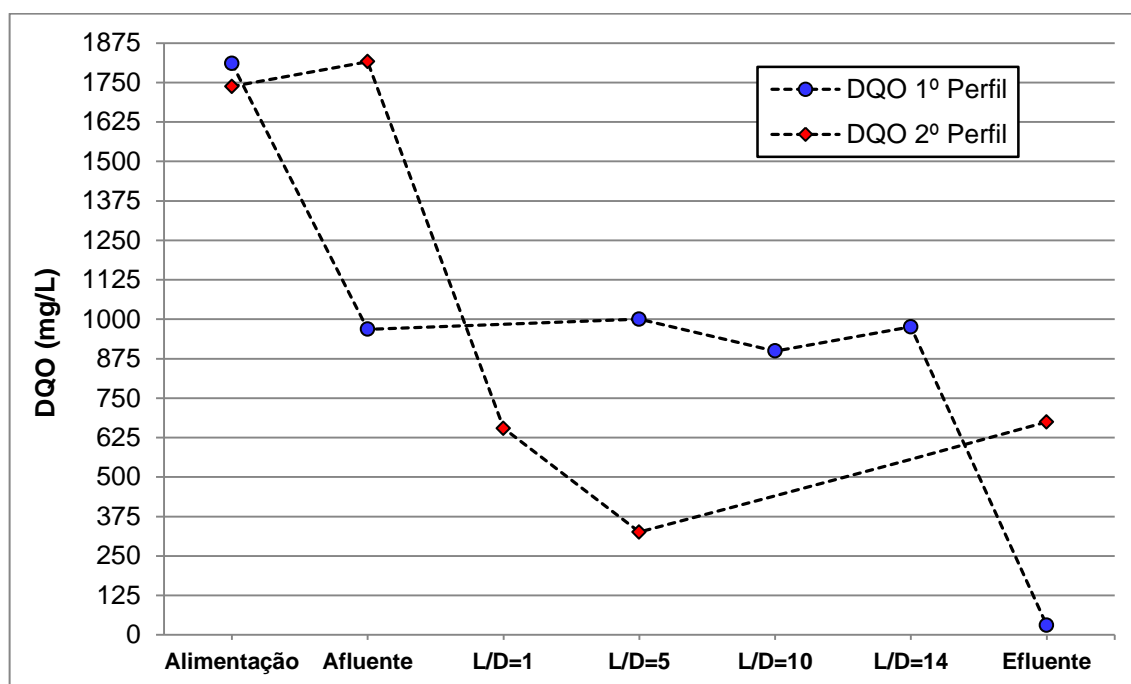


Figura 5.11 – DQO Perfis espaciais

Remoção de matéria orgânica (DQO) de 46 % (L/D 1) foi verificada para DQO afluente de 1810 ± 292 mg/L. Verificou-se que ao longo do reator nos pontos L/D 5, 10, 14 remoção de 52% de DQO, totalizando remoção de 98% ao longo de todo o sistema, considerando a mesma DQO afluente.

No segundo perfil verificou-se acúmulo de óleo no leito do reator, o qual interferiu na remoção de matéria orgânica. A maior eficiência de remoção foi observada entre a entrada do reator e L/D 1, ou seja, aproximadamente 62% da matéria orgânica foi removida nesse trecho, para DQO afluente de 1737 ± 292 mg/L.

Analisando a variação de pH, no primeiro perfil verificou-se pH entre 7,6 e 7,8; enquanto, no segundo perfil a variação esteve entre 7,6 e 7,9. O pH afluente foi de 7,8 e 7,9 para o primeiro e segundo perfil, respectivamente. Não foi observado padrão ou tendência de alteração no pH no leito do reator (Figura 5.12).

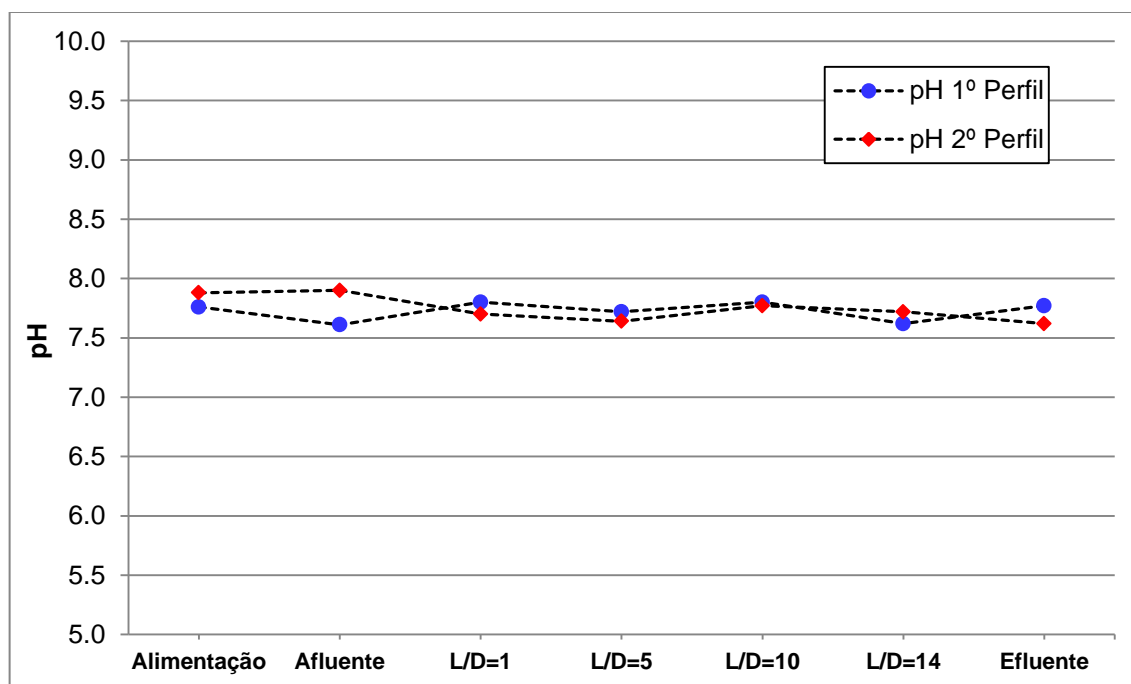


Figura 5.12 – Variação espacial de pH Perfis

5.4. CROMATOGRAFIA DE PCBS

A curva de calibração foi obtida a partir dos padrões de Aroclor 1016 e 1260 (Figura 5.13). Os limites de detecção foram estabelecidos em 1mg/L e 20mg/L, para o mínimo e máximo respectivamente. O coeficiente de correlação linear (R^2) obtido para esse intervalo foi próximo da unidade (0,9925) indicando boa confiabilidade da curva.

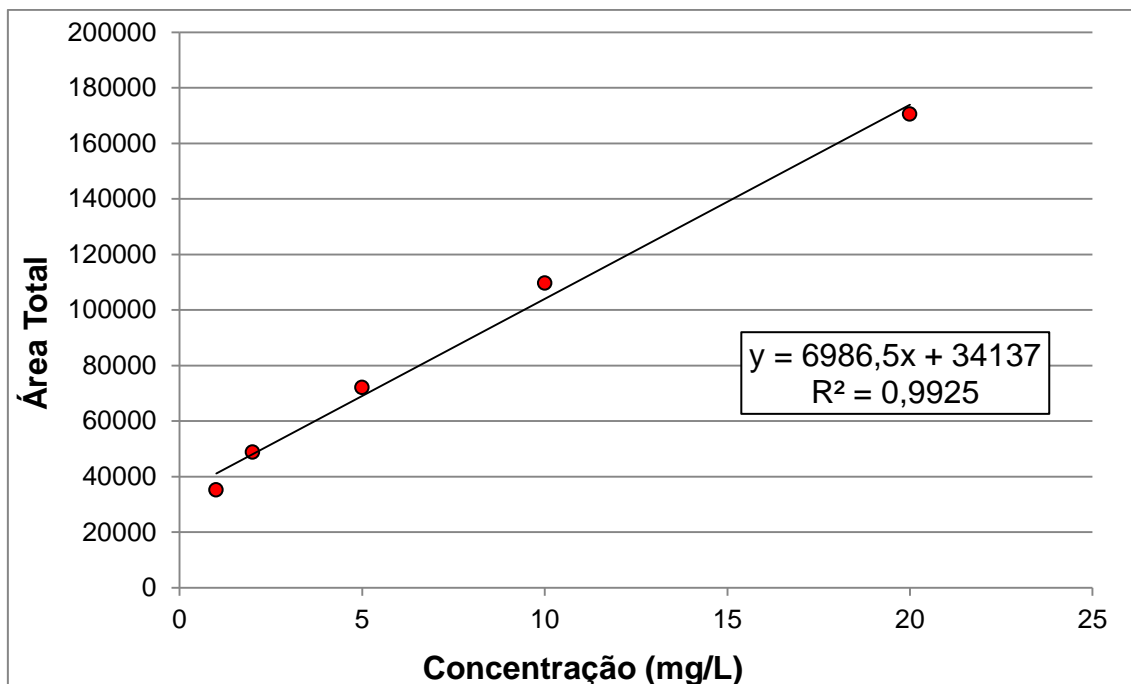
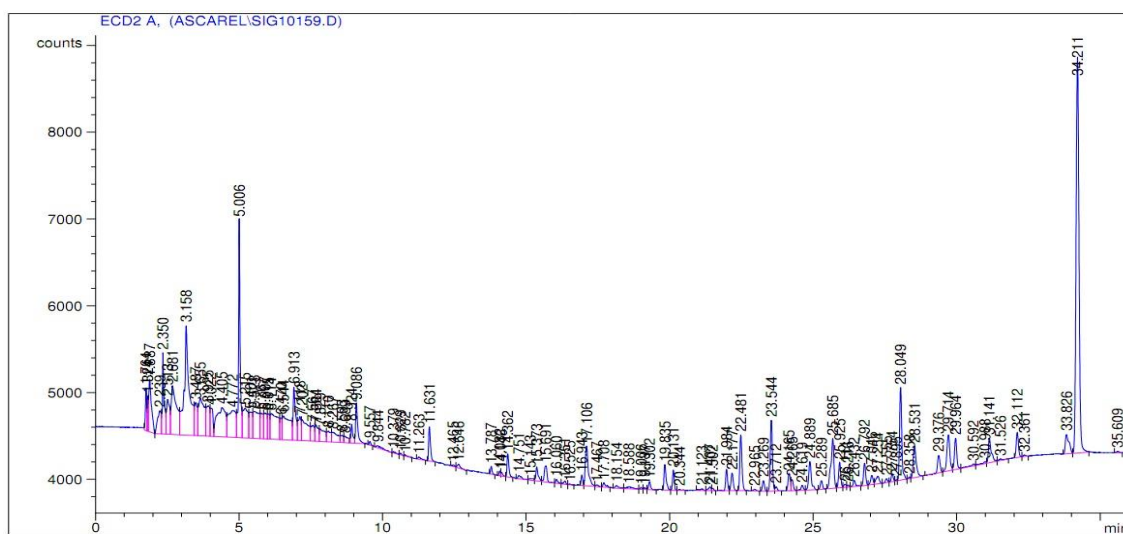


Figura 5.13 – Curva de Calibração de PCBs

Os cromatogramas obtidos a partir da injeção de padrões de Aroclor apresentavam perfil de picos bem definidos, como observado na Figura 5.14. Todavia, os cromatogramas das amostras do reator apresentavam muitos picos com áreas reduzidas, dificultando a determinação de PCB.



Após 105 dias e 169 dias de operação com adição de ascarel, foram realizadas análises de PCB (Figuras 5.15, 5.16 e 5.17). Analisando esses cromatogramas e comparando-os com os cromatogramas da curva de calibração (Figura 5.16) foi possível visualizar a diferença entre o comportamento dos picos. O número elevado de picos presente no efluente inviabiliza a quantificação de PCBs, pois fica impossível distinguir quais picos são referentes aos PCBs, quais são de outros compostos presentes no óleo e quais são de ruído, assim optou-se por uma análise aproximada, baseada nos tempos de retenção de cada pico.

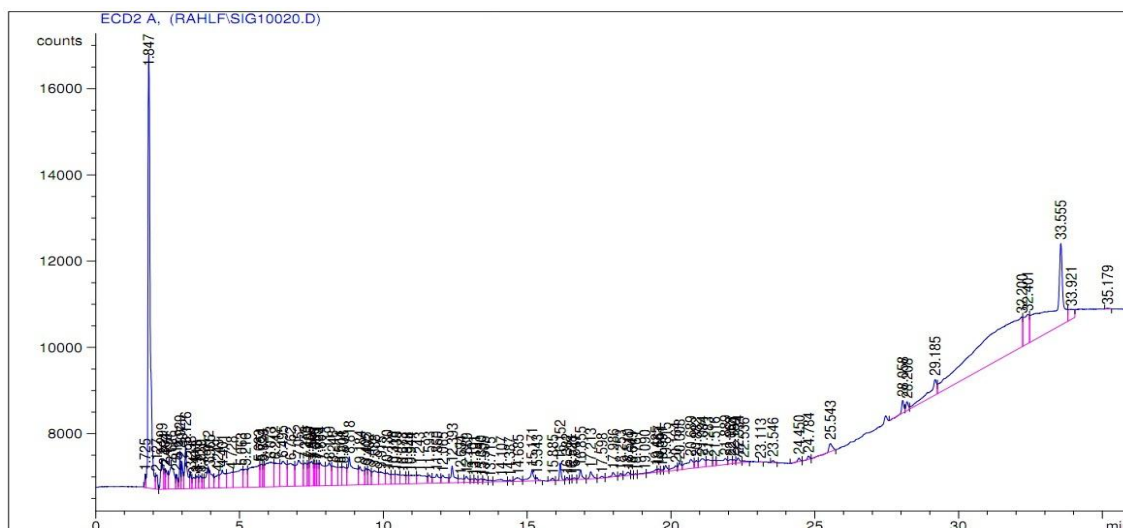


Figura 5.15 – Cromatograma Efluente RAHLF – Início da operação com ascarel

PCBs no óleo utilizado na alimentação do reator e pelo fator de diluição aplicado (1:1000) no meio de alimentação.

Entretanto, aplicando a mesma metodologia para cálculo de PCB nas amostras dos perfis foi possível identificar PCB em baixa concentração, inferior a 2mg/L em L/D 10 e L/D 14 (Figuras 5.20 e 5.21) do RAHLF. Tais resultados foram condizentes com o acúmulo de óleo nesta região. Apesar dos resultados nulos obtidos para afluente e efluente de PCBs no reator, esse composto estava presente em baixa concentração no interior do reator, especialmente na sua metade final.

Abaixo são apresentados os cromatogramas do 1º perfil, alguns pontos foram excluídos, pois praticamente não apresentaram picos e os poucos picos presentes não possuem área significativa. Resultados semelhantes foram verificados no segundo perfil, os cromatogramas com maior quantidade de picos referentes à PCBs, também foram dos pontos L/D iguais a 10 e 14.

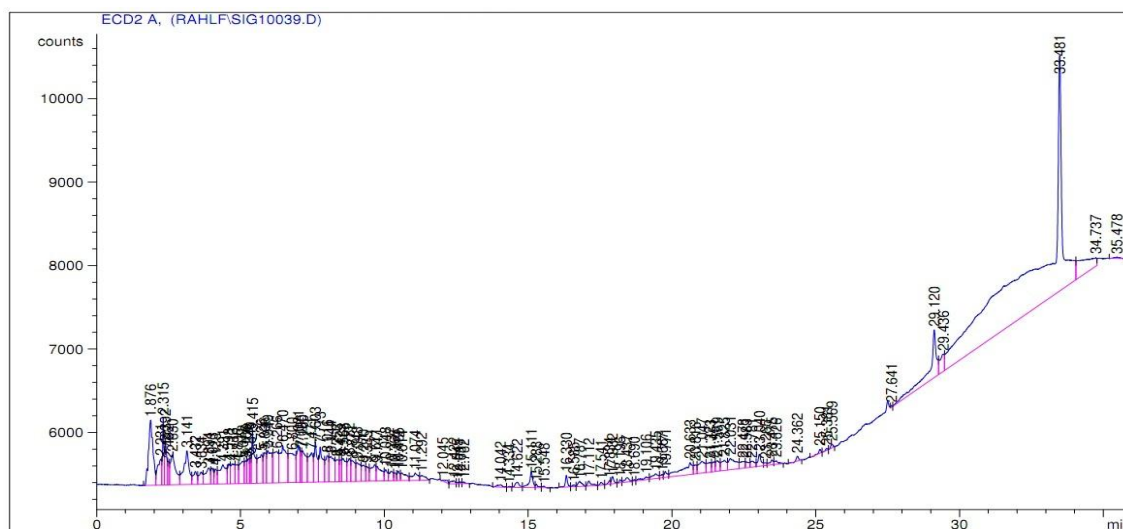


Figura 5.18 – Cromatograma 1º Perfil – Afluente

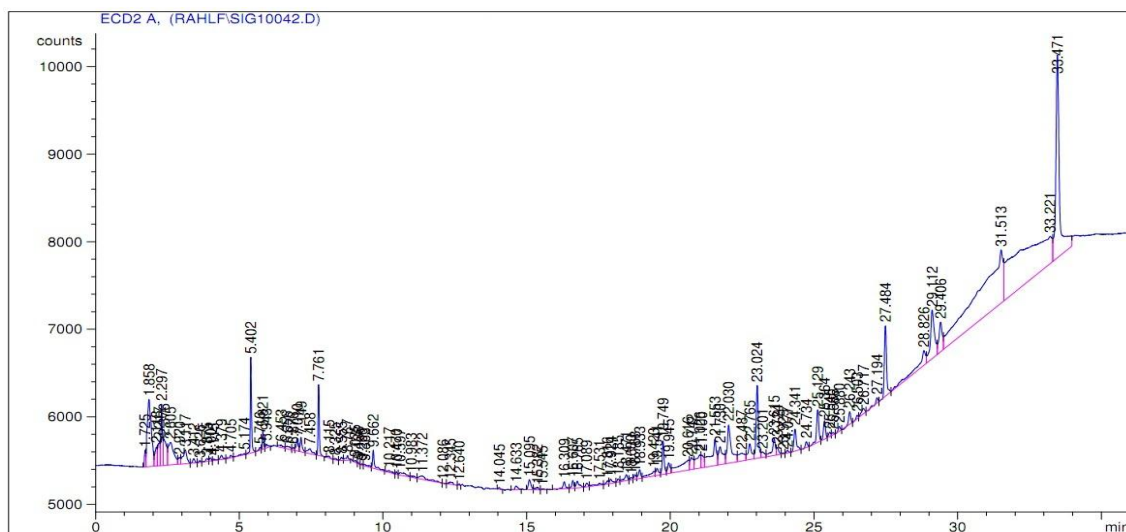


Figura 5.19 – Cromatograma 1º Perfil – Ponto de amostragem L/D = 5

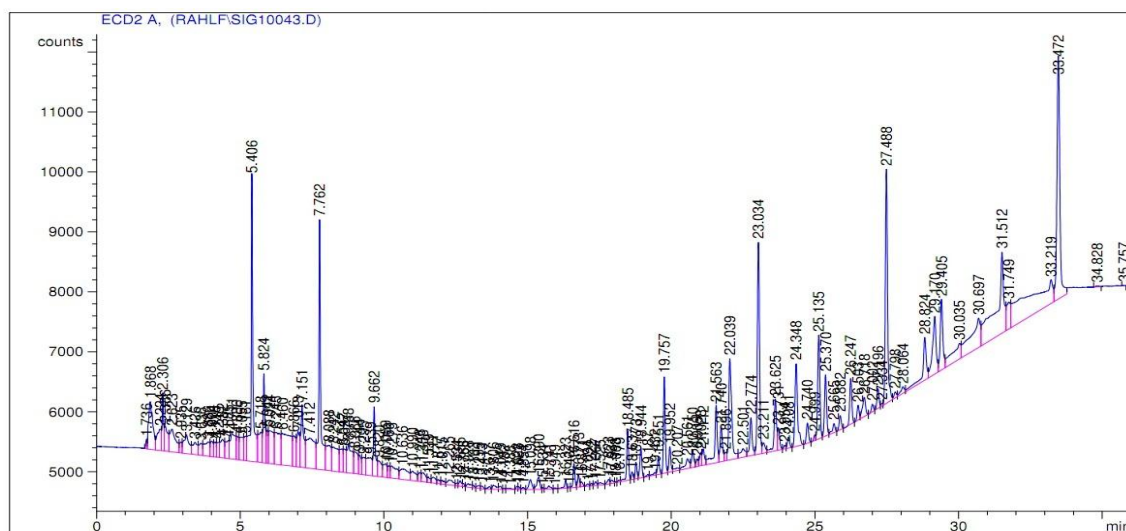


Figura 5.20 – Cromatograma 1º Perfil – Ponto de amostragem L/D = 10

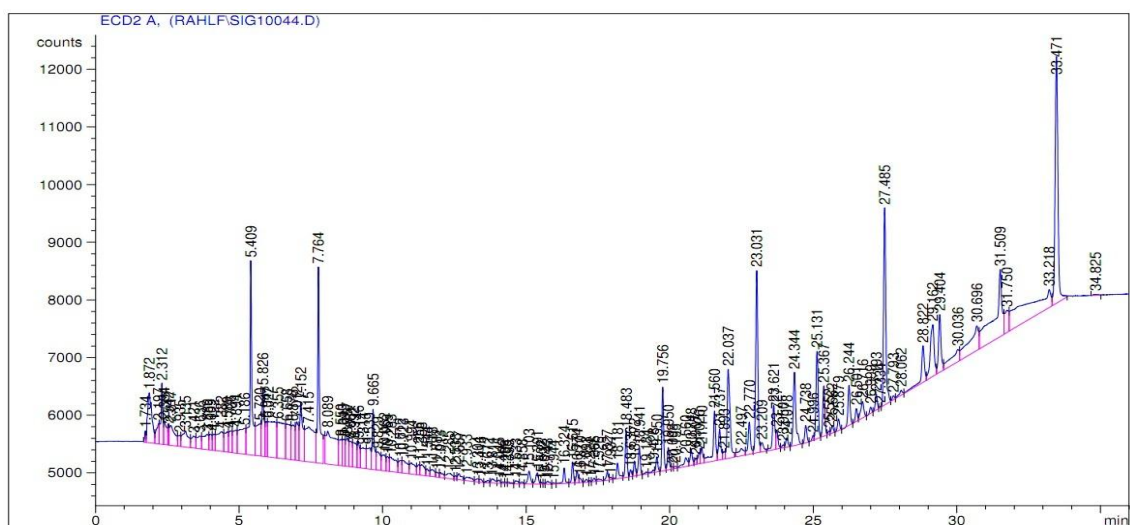


Figura 5.21 – Cromatograma 1º Perfil – Ponto de amostragem L/D = 14

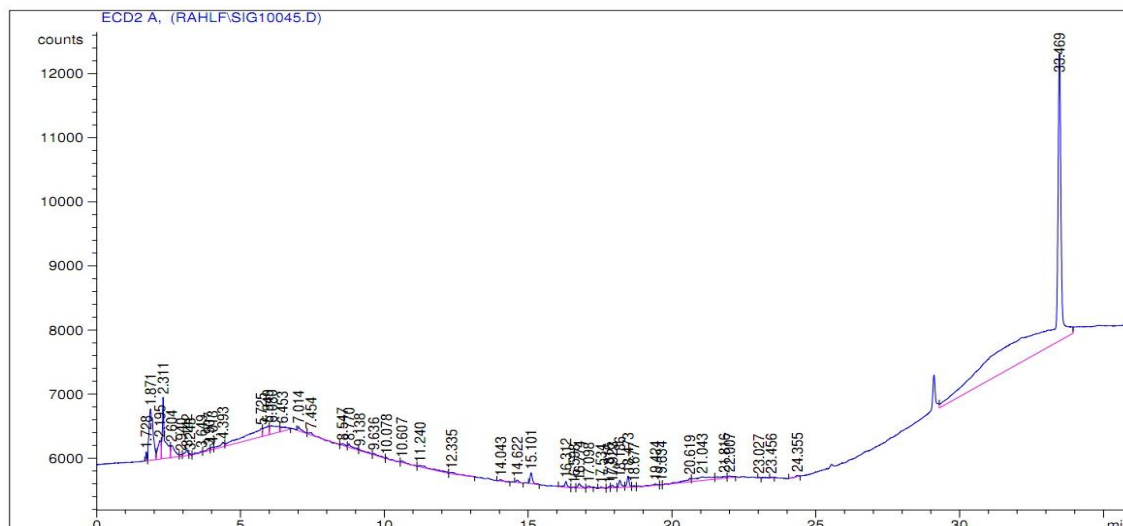


Figura 5.22 – Cromatograma 1º Perfil – Efluente

5.5. EXAMES MICROSCÓPICOS

5.5.1. ENSAIOS PRELIMINARES

Os exames microscópicos realizados nas amostras dos reatores operados em batelada apresentaram morfologias semelhantes à *Methanosaeta*, *Methanosarcina* e bacilos fluorescentes, confirmando a atividade metanogênica nos reatores em batelada. Nas figuras 5.23 e 5.24, obtidas em microscópio ótico com amplificação de 2.000 vezes, observa-se morfologias semelhantes a arqueias metanogênicas. As frequências observadas das diferentes morfologias nos campos de visão foram computadas e estão mostradas nas Tabela 5.2 e 5.3.

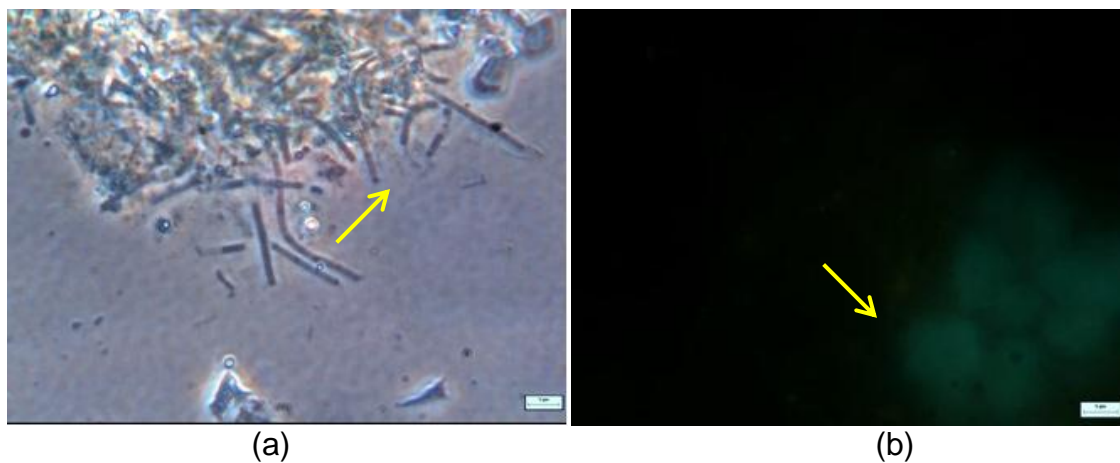


Figura 5.23 – Microscopia de contraste de fase (a) *Methanosaeta* (b) *Methanosarcina* (2000X)

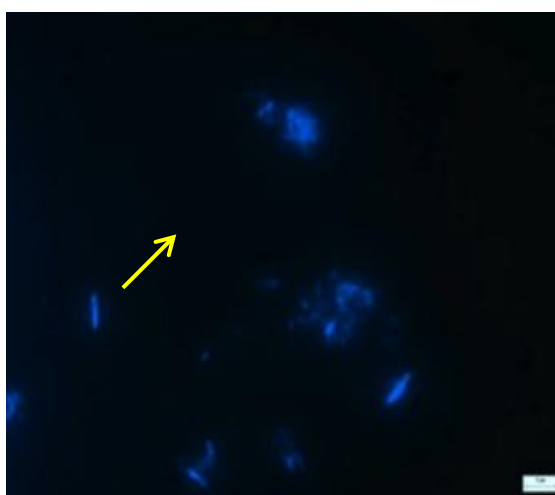


Figura 5.24 – Microscopia de contraste de fase (2000X) – Bacilo Fluorescente

Tabela 5.2 – Frequências observadas (após 7 dias)

MORFOLOGIA	REATORES								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Arqueias Metanogênicas									
<i>Methanosarcina</i> sp.									
<i>Methanosaeta</i> sp.		++	++	++	++		++	++	
Bacilos fluorescentes		+++	+++	+++	++++	++	+++	+++	+++
Bactérias									

MORFOLOGIA	REATORES								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Bacilos com extremidades arredondadas	+	++	++			+++	++	++	++
Bacilos delgados	+	++	++	++	++		++	++	++
Bacilos gordos						++			
Bacilos com grânulos		++							
Bacilos esporulados	+								
Cocos (grandes)			+++	+++					
Cocos em cadeia								++	++
Filamentos			++	++	++		++	++	++

(++++) predominantes, (+++) freqüentes, (++) pouco freqüentes, (+) raros, (-) não foram observados

1 – Controle; 2 – Controle com ascarel; 3 – Metanol (1,6 g/L); 4 – Metanol (790 mg/L); 5 – Metanol (395 mg/L); 6 – Triton X100 10% (1:1); 7 – Triton X-100 10% (1:10); 8 – Ác. Fórmico (1,2 g/L); 9 – Ác. Fórmico (600 mg/L).

Tabela 5.3 – Frequências observadas (após 14 dias)

MORFOLOGIA	REATORES								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Arqueas Metanogênicas									
<i>Methanosarcina</i> sp.		++		++	++		+++		
<i>Methanosaeta</i> sp.		+++	++	+++			+++		+++
Bacilos fluorescentes		+	++	++	+		++	++	++
Bactérias									
Bacilos com extremidades afiladas							++		
Bacilos com extremidades arredondadas		+++	+++	+++	+++			++	++
Bacilos delgados									++
Bacilos esporulados		++	++					++	
Cocos (GRANDES)			+++	+++					
Filamentos		+++	++	++	+++		++	++	++
Filamento septado			++						
“cristais” fluorescentes			++++	+++	++++		++++		++++

(++++) predominantes, (+++) freqüentes, (++) pouco freqüentes, (+) raros, (-) não foram observados

1 – Controle; 2 – Controle com ascarel; 3 – Metanol (1,6 g/L); 4 – Metanol (790 mg/L); 5 – Metanol (395 mg/L); 6 – Triton X100 10% (1:1); 7 – Triton X-100 10% (1:10); 8 – Ác. Fórmico (1,2 g/L); 9 – Ác. Fórmico (600 mg/L).

Analisando as tabelas de frequência quanto à presença das arqueias, observou-se predominância de bacilos fluorescentes nos dois exames, com identificação de *Methanosarcina* apenas no segundo exame. No reator controle não foram observadas arqueias metanogênicas.

Quanto às bactérias, observou-se predominância de filamentos e bacilos delgados no primeiro exame, não sendo observados no segundo exame (apenas no reator 9). Também não foram identificadas bactérias no reator controle.

A maior diversidade de microrganismos foi observada no reator alimentado com metanol 1,6 g/L, este também foi o reator com maior produção de metano.

O reator alimentado com Triton X-100 10% em baixa concentração, escolhido para a próxima etapa do trabalho, apresentou grande quantidade e diversidade de arqueias após 14 dias de operação.

5.5.2. RAHLF

5.5.2.1. MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASE

A microscopia de contraste de fase foi realizada no final do período de adaptação da biomassa e após a adição do ascarel no primeiro perfil (Figuras 5.25 a 5.27).

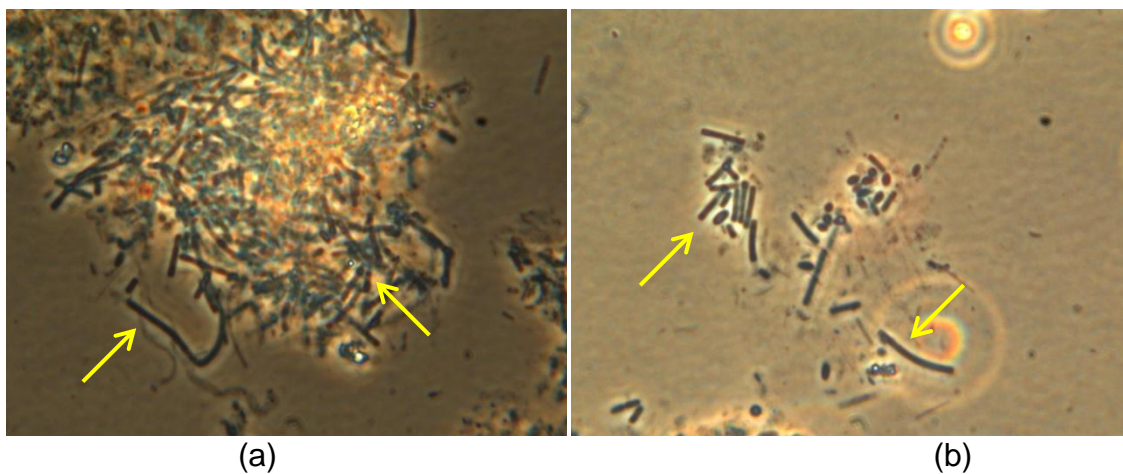


Figura 5.25 – Microscopia de contraste de fase: (a) *Methanosaeta* (b) bacilos (2000X)

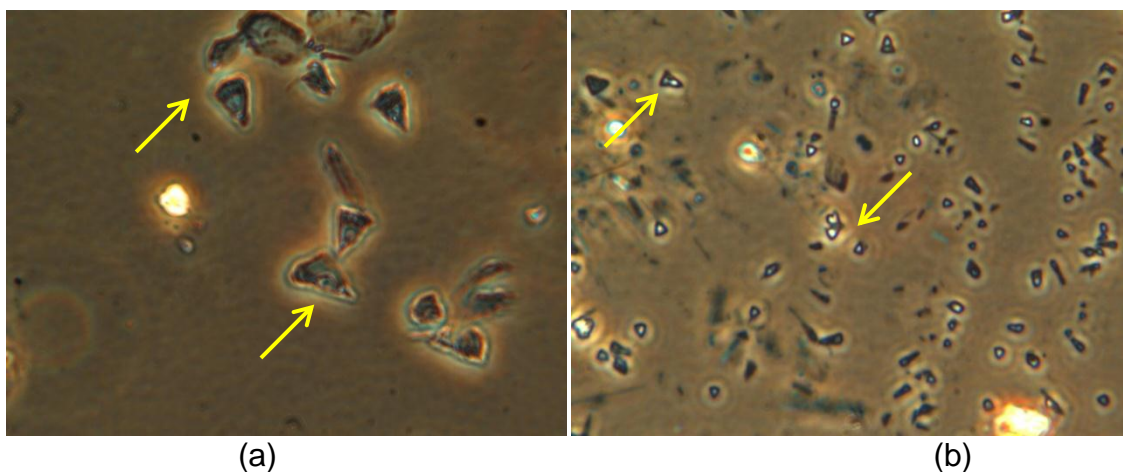


Figura 5.26 – Microscopia de contraste de fase: (a) e (b) resíduos inertes (2000X)

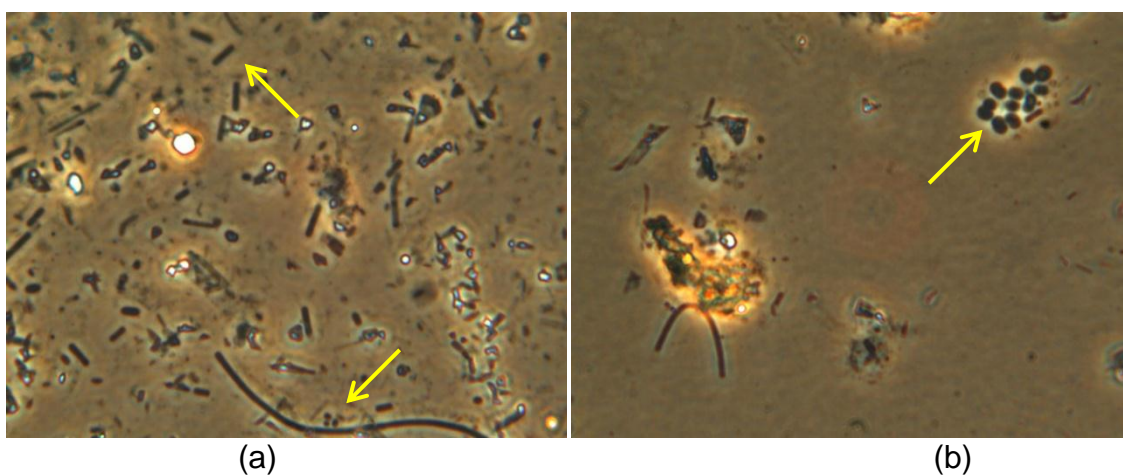


Figura 5.27 – Microscopia de contraste de fase (a) bacilos e *Methanosaeta* (B) cocos (2000X)

Ampla diversidade morfológica foi observada com predomínio de arqueias metanogênicas, presentes em todos os pontos de coleta, sobretudo na primeira metade do reator (L/D 1, 5 e 10). Foram observados bacilos de extremidades arredondadas em todas as amostras, enquanto, eram muito raros aglomerados de cocos (Figura 5.27 - b). Verificou-se também a estratificação do leito do reator, devido ao tipo de escoamento estabelecido no reator devido a sua conformação física; ou seja, observou-se a ocorrência de zonas com características distintas, a quantidade de morfologias observadas e principalmente a diversidade variaram em razão das diferentes condições ambientais criadas ao longo do leito do reator.

As frequências observadas das diferentes morfologias nos campos de visão foram computadas e estão mostradas na Tabela 5.4 referente ao primeiro perfil.

Tabela 5.4 – Caracterização morfológica de bactérias e arqueias do biofilme do RAHLF no primeiro perfil

MORFOLOGIA	ESPUMA DE POLIURETANO				
	L/D	L/D	L/D	L/D	L/D
	1	5	10	14	19
Arqueas Metanogênicas					
<i>Methanosarcina sp.</i>	++++	+++	++	++	+
<i>Methanosaeta sp.</i>	++	++	++	++	+
Bacilos fluorescentes	-	-	-	-	-
Bactérias					
Bacilos extremidades arredondadas	+	+	+	++	++
Bacilos delgados					++
Bacilos esporulados				+	++

(++++) predominantes, (+++) frequentes, (++) pouco frequentes, (+) raros, (-) não foram observados

Verificou-se a predominância de arqueias metanogênicas, semelhantes à *Methanosaeta* e *Methanosarcina* ((a) (b)

Figura 5.28) observadas em todos os pontos do reator, com predominância nos pontos iniciais (L/D 1 e 5). Tais arqueias metanogênicas são especialistas na utilização de acetato. Além disso, *Methanosarcina* sp. são capazes de usar formiato, metanol e H_2/CO_2 para produção de metano. Desse modo, a presença predominante dessa arqueia foi favorecida devido à adição de formiato de sódio usado como co-substrato metabólico para degradação do óleo ascarel. Bacilos com extremidades arredondadas também foram observados em todos os pontos, em menor frequência.

A maior diversidade de microrganismos foi observada nos pontos finais do reator (L/D 14 e 19), enquanto, a presença de material inerte, sujeira e resíduos ((a) (b)

Figura 5.29 – a), além de polímero foi observada em todo o perfil espacial. Foi possível visualizar também gotículas de óleo, que sob luz ultravioleta também apresentam fluorescência, dificultando a visualização de microrganismos sob esta condição (Figura 5.29 – b).

Por meio da análise microscópica de contraste de fase foi observada grande variação morfológica ao longo do leito do reator, indicando estratificação nesse sistema. Tal variação, também, foi observada após o primeiro perfil, com certa diminuição da diversidade em alguns pontos devido, muito, provavelmente, a adição do óleo.

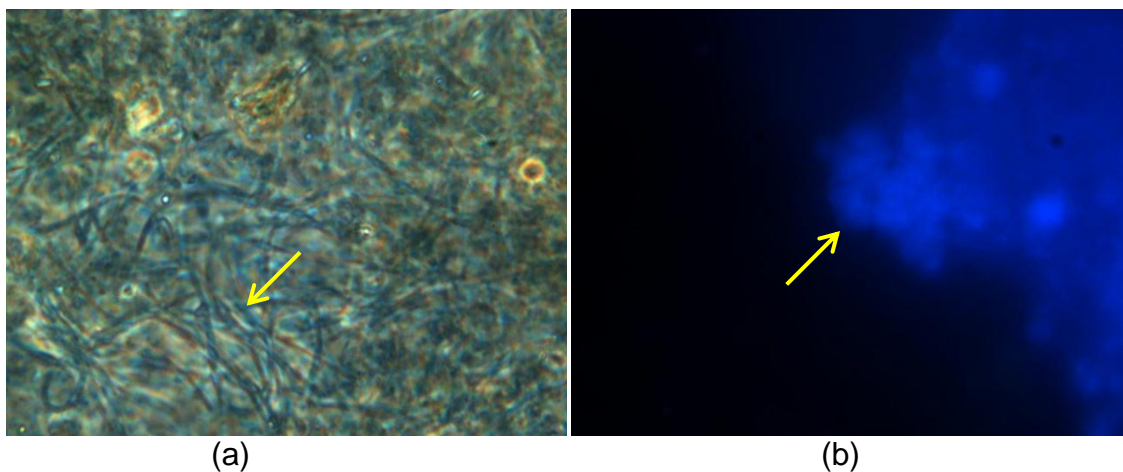


Figura 5.28 – Microscopia de contraste de fase – Primeiro perfil (a) *Methanosaeta* (b) Microscopia de fluorescência de *Methanosarcina* (2000X)

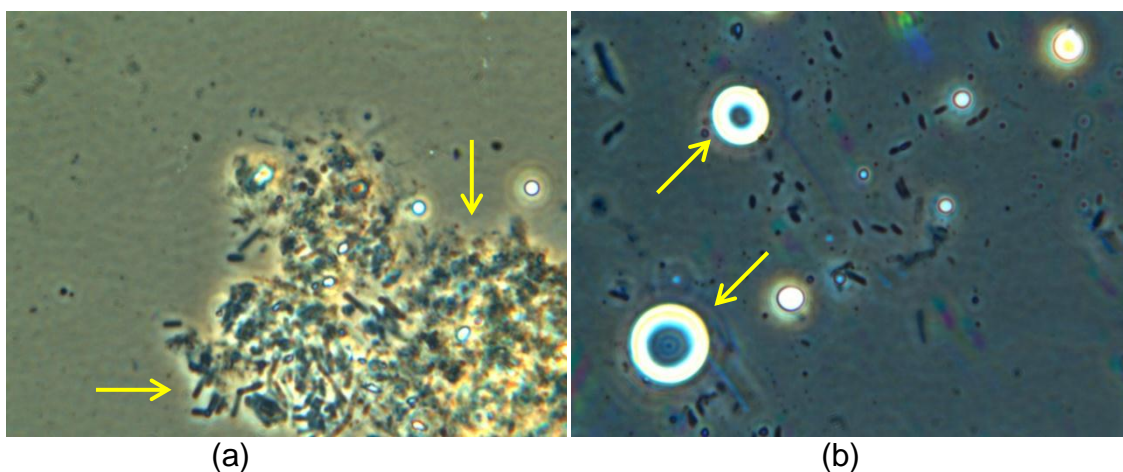


Figura 5.29 – Microscopia de contraste de fase – Primeiro perfil – (a) Aglomerado de células e material inerte (b) Gotas de óleo (2000X)

5.5.2.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Por meio da microscopia eletrônica de varredura foram confirmadas algumas morfologias observadas em microscopia de contraste de fase. Foi possível identificar morfologias semelhantes às arqueias metanogênicas antes e depois da adição do ascarel no reator. A predominância de microrganismos metanogênicos no reator já

era esperada uma vez que as condições de alimentação foram propostas exatamente para criar condições para o crescimento desses microrganismos. Outro fator que contribuiu para essa predominância foi a utilização de lodo predominantemente metanogênico, proveniente de reator UASB (Figuras 5.30 e 5.31).

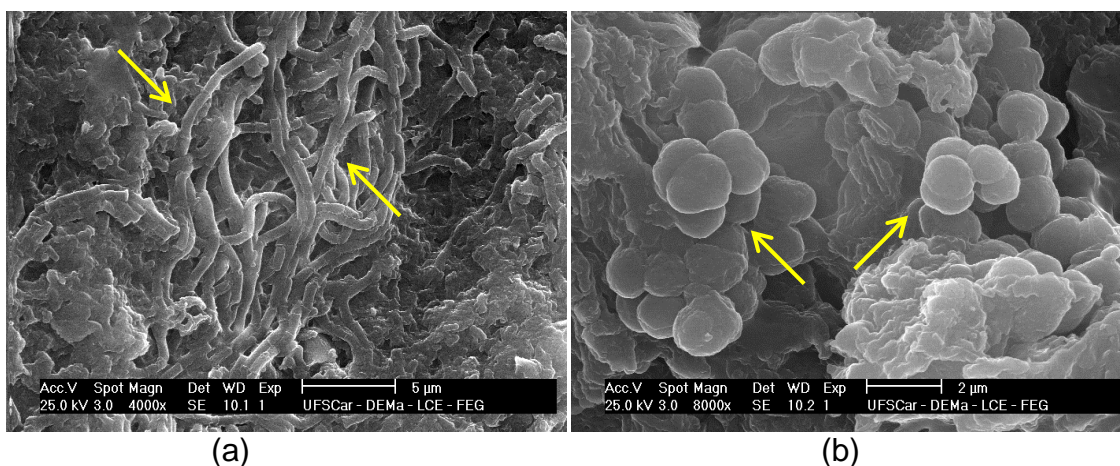


Figura 5.30 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a)

Methanosaeta (b) *Methanosarcina*

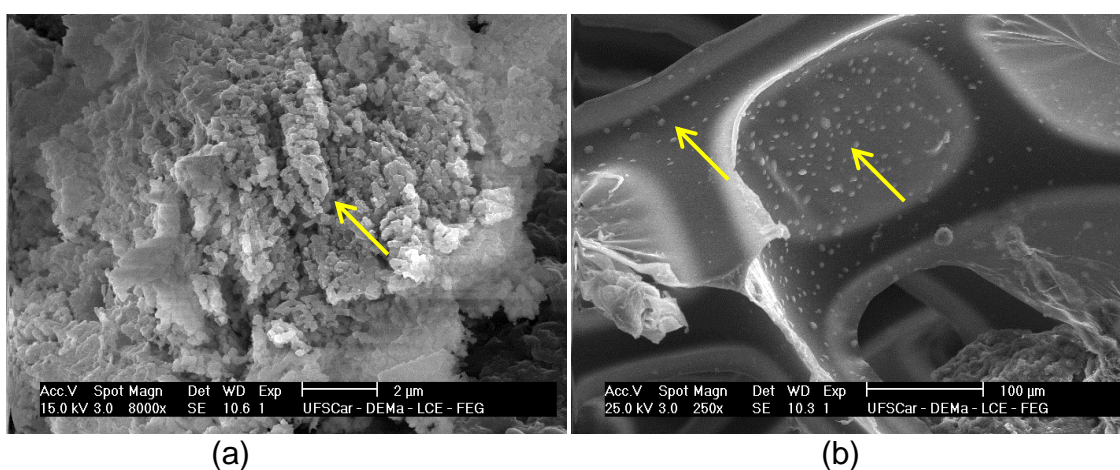


Figura 5.31 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a)

polímero extra celular (b) óleo na matriz suporte

Observou-se grande quantidade de polímero extra celular, em todas as amostras do perfil. A presença do polímero favorece crescimento dos microrganismos, uma vez que, atua como barreira protetora para os microrganismos contra compostos tóxicos, reduzindo, portanto, contato direto com as células (COHEN, 2001). Por outro lado, o biopolímero age negativamente, uma vez que este material inerte diminui o volume do leito, dificultando o escoamento e criando caminhos preferenciais, tais condições favorecem o arraste de material para fora do reator piorando a qualidade do efluente final.

Também havia grande quantidade de arqueias metanogênicas, sobretudo *Methanosaeta* e *Methanosarcina*. Verificou-se também a presença de pequenas gotículas de óleo aderidas ao material suporte (Figura 5.31).

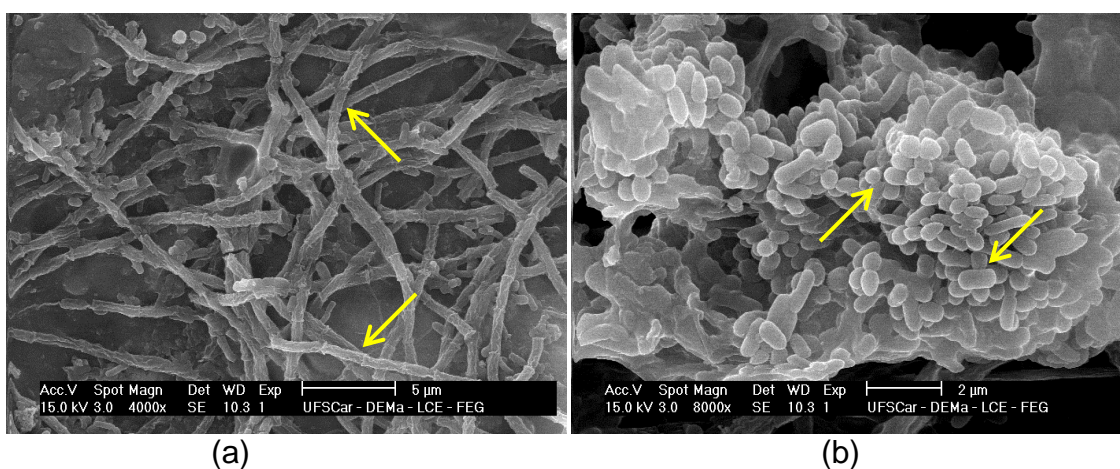


Figura 5.32 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a) *Methanosaeta* (b) aglomerado de bacilos arredondados e cocos

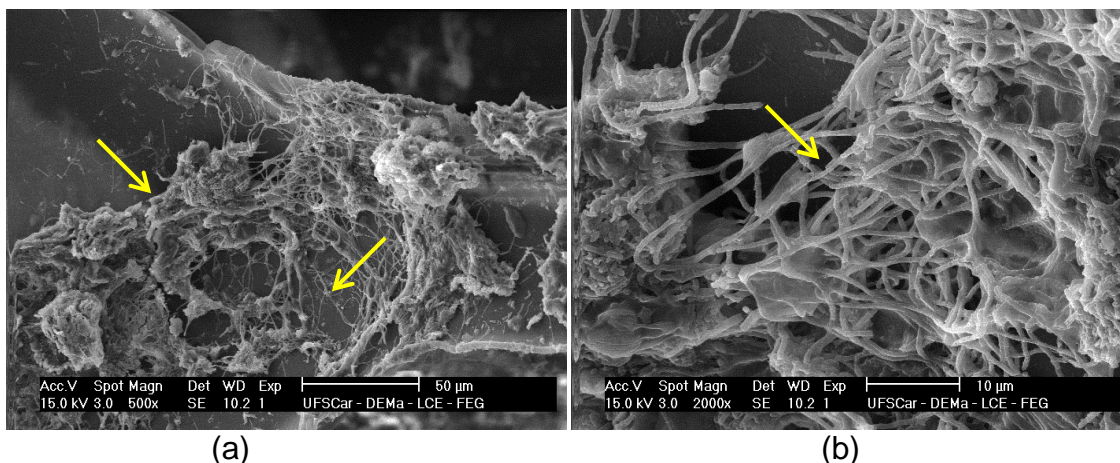


Figura 5.33 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a) formação de biofilme (b) emaranhado de *Methanosaeta* na matriz suporte

Após 150 dias de operação foram visualizadas arqueias metanogênicas e gotículas de óleo aderidas ao suporte, todavia, as gotículas não mais se encontravam sozinhas na matriz, ou seja, observou-se grande quantidade de microrganismos ao seu redor (Figura 5.34). Outra observação interessante foi a colonização do suporte por diversos microrganismos, em várias amostras foi possível observar interfaces de material suporte livres e outras sendo ocupadas por microrganismos (Figura 5.33).

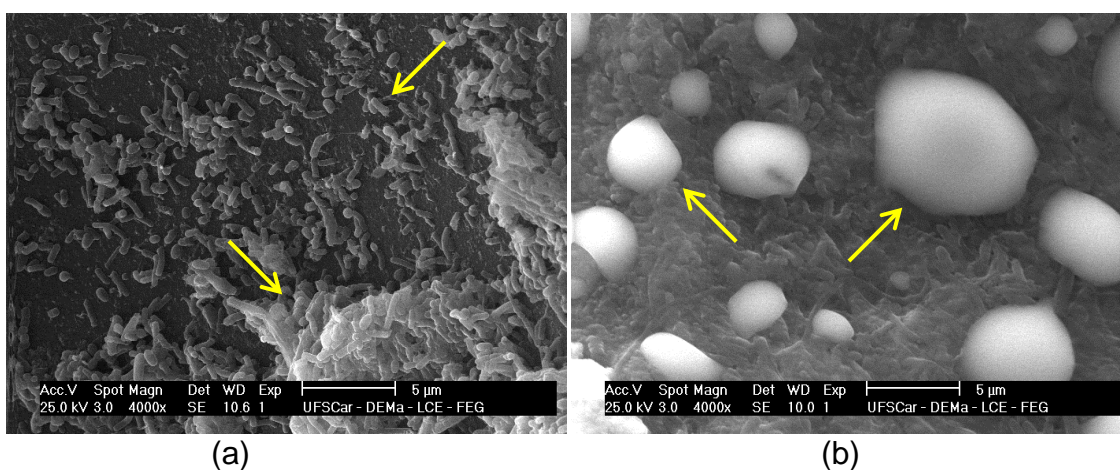


Figura 5.34 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a) colonização do material suporte (b) gotas de óleo aderidas ao biofilme

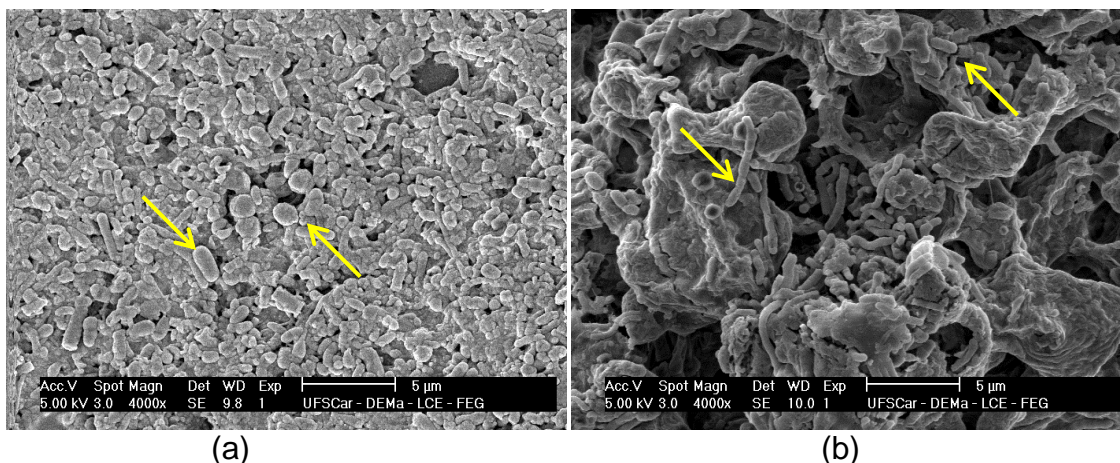


Figura 5.35 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a) diversidade morfológica no biofilme (b) bacilos

A presença de gotículas de óleo na matriz levantou dúvidas quanto a existência ou não de PCBs nas gotas. Portanto, para dissolver essas dúvidas foi realizada microanálise no próprio equipamento de microscopia eletrônica de varredura. A realização de microanálise (EDX) (Figura 5.37) sobre as gotículas confirmou a presença de átomos de cloro, confirmando a hipótese de que estas gotículas continham PCB.

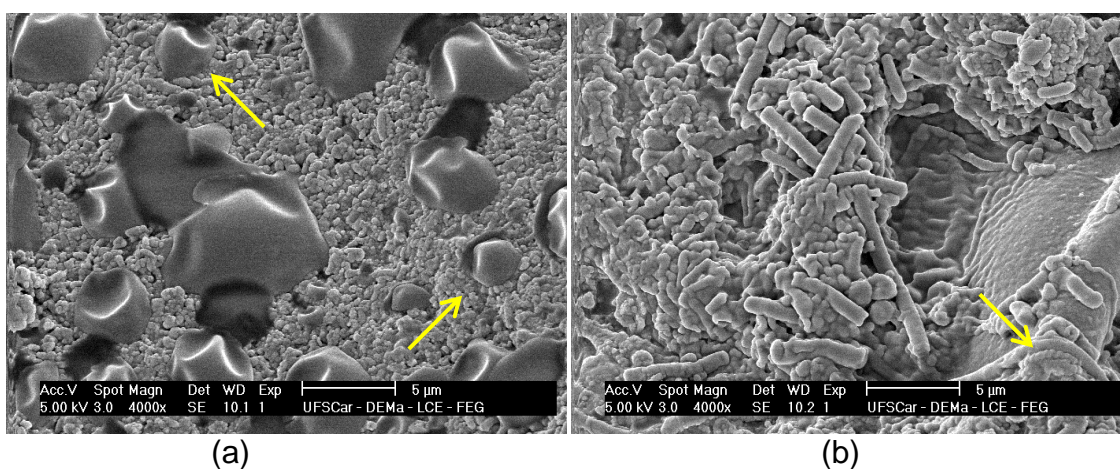


Figura 5.36 – Morfologias observadas em microscopia eletrônica de varredura (a) gotas de óleo estudadas em microanálise (b) morfologia semelhante à Espiroqueta

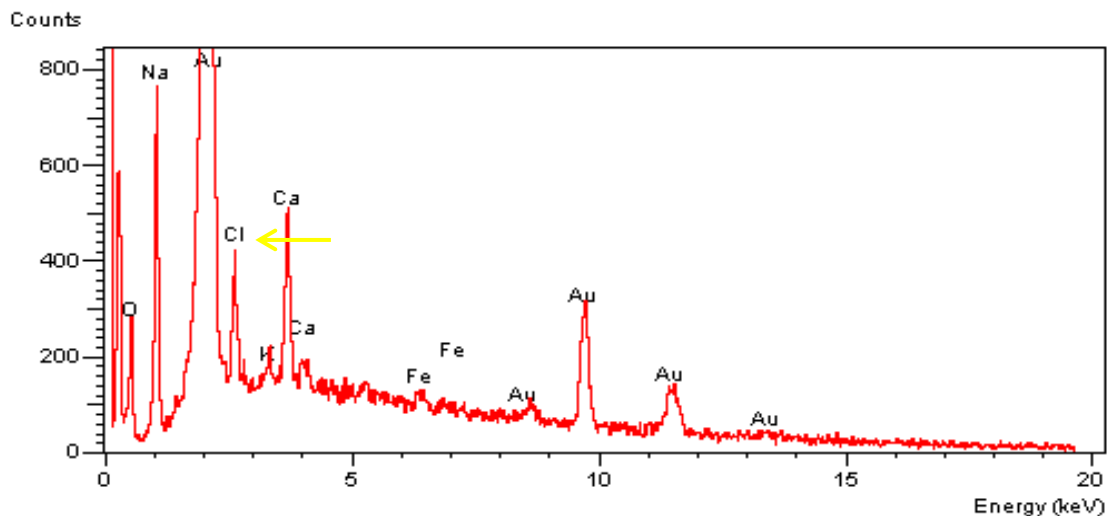


Figura 5.37 – Microanálise de gota de óleo: presença de cloro

6. CONCLUSÕES

Os estudos preliminares realizados neste trabalho confirmaram o crescimento da população microbiana com produção de metano e provável descloração de bifenilas, por meio da adição de Triton X-100 10%, ácido fórmico (600 mg/L) e metanol (1,6 g/L) em reatores operados em batelada com espuma de poliuretano como suporte. As velocidades máximas específicas de produção de metano nestes reatores foram respectivamente: $2,53 \times 10^{-3} \mu\text{mol metano/mL.g STV}$, $3,82 \times 10^{-3} \mu\text{mol metano/mL.g STV}$ e $2,83 \times 10^{-3} \mu\text{mol metano/mL.g STV}$. A utilização de solvente se fez necessária uma vez que o ascarel é pouco solúvel no meio de nutrientes. O solvente mais adequado foi Triton X-100 10% em relação 1:1 com ascarel.

O reator anaeróbio horizontal de leito fixo mostrou elevada remoção de matéria orgânica proveniente de óleos contendo bifenilas policloradas. A determinação de PCBs foi prejudicada pela baixa concentração de óleo utilizada na alimentação, entretanto, a presença de PCBs foi confirmada no leito do reator.

Apesar de não ser possível determinar se houve a descloração de PCBs, foi possível operar o reator, sem colapso, por 170 dias, com adição do óleo. A eficiência de remoção de matéria orgânica foi de 96% para concentração afluyente de 2083 ± 476 mg/L para a fase de adaptação e 90% com concentração afluyente de 1616 ± 292 mg/L durante a fase com adição de ascarel. A adição de óleo, embora, pequena resultou em acúmulo no sistema hidráulico e no leito do reator, ocasionando descargas ocasionais no efluente.

Ocorreu estratificação do leito do reator, com surgimento de zonas com características distintas que possibilitaram crescimento diferenciado de microrganismos e, por conseguinte, remoção de matéria orgânica diferenciada nas diferentes zonas do reator.

Através dos exames microscópicos foi possível verificar a presença de microrganismos associados com a produção de metano, tanto nos ensaios preliminares quanto no RAHLF. Além disso foi observada diversidade morfológica e presença de grandes quantidades de biopolímero e de gotas de óleo aderidas ao suporte no RAHLF, nas quais foi confirmada a presença de cloro, indicando se tratar de óleo contendo PCBs. O acúmulo de biopolímero, apesar de elevado, não chegou a interferir significativamente no funcionamento do reator a ponto de alterar sua eficiência, entretanto após um período muito longo pode ser necessário remover parte do polímero para evitar a colmatação do leito.

7. BIBLIOGRAFIA

ABRAMOWICZ, D. A. Aerobic and anaerobic PCB biodegradation in the environment; *In the Conference on Biodegradation: Its Role in Reducing*

Toxicity and Exposure to Environmental Contaminants held, 26-28, in Research Triangle Park, North Carolina, 1993.

ABRAMOWICZ, D. A. Aerobic and anaerobic PCB biodegradation of PCB: A review. *Critical Review Biotechnology*, 10: 241-251, 1990.

ANGELIDAKI, I.; PETERSEN, S. P.; AHRING, B. K. Effects of Lipids on Thermophilic Anaerobic-Digestion and Reduction of Lipid Inhibition Upon Addition of Bentonite. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 33 (4), 469-472, 1990.

APHA/AWWA/WEF, American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Standard methods for examination of water and wastewater. 20th ed, Washington DC, USA, 1325p., 1999.

ARAÚJO, J.C., Biofilmes Anaeróbios: desenvolvimento e caracterização filogenética usando a hibridação "in situ" com sondas fluorescentes. *Tese de doutorado*, EESC, USP, São Carlos, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 13882: Líquidos isolantes elétricos - Determinação do teor de bifenilas policloradas (PCB). Rio de Janeiro: ABNT, 1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 8371: ascarel para transformadores e capacitores - Características e riscos - Elaboração. Rio de Janeiro: ABNT, 1997.

ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for polychlorinated biphenyls (PCBs); Atlanta, USA. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2000.

BERKAW, M.; SOWERS, K. R.; MAY, H. D. Anaerobic ortho dechlorination of Polychlorinated Biphenyls by estuarine sediments from Baltimore harbor, *Applied and Environmental Microbiology*, 2534–2539, 1996.

BORJA, J.; TALEON, D. M.; AURESENIA, J.; GALLARDO, S. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochemistry*, 40, 1999-2013, 2005.

BRASIL. Instrução Normativa SEMA/STC/CRS/ N.001, de 15 de Junho de 1983. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 15 junho de 1983, Seção 01, p. 1, 10.403.

BRASIL. MI/MIC/MME. Portaria Interministerial nº 019, de 29/01/1981. Dispõe sobre fabricação e uso de ascarel.

BREIVIK, K.; SWEETMAN, A.; PACYNA, J. M.; JONES, K. C. Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners - a mass balance approach. Global production and consumption. *The Science of Total Environment*, 290, (1-3), 181–198, 2002.

BROWN JR, J. F.; WAGNER, R. E.; FENG, H.; BEDARD, D. L.; BRENNAN, M. J.; CARNAHAN, J. C.; MAY, R. J. Environmental dechlorination of PCBs. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 6, 579-593, 1987.

COHEN, Y. Biofiltration the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a mini review. *Bioresource Technology*, v.77, p.257-274, 2001.

DILALLO, R; ALBERTSON, O. E. Volatile acids by direct titration. *Journal of Water Pollution Control Federation*, v.33, n.4, p.356-365, 1961.

EPA VICTORIA METHOD 6013. Determination of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in waste oils by gas chromatography with electron capture detector. Australia, 2003.

FAVA, F. The presence of glass beads or Triton X-100 in the medium enhances the aerobic dechlorination of Aroclor 1221 in *Pseudomonas* sp. CPE 1 Culture. *Chemosphere*, v.32, p. 1469-1475, 1996.

FIEDLER, H. Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Uses and environmental releases. *Proceedings of the Subregional Awareness Raising Workshop on Persistent Organic Pollutants (POPs)*, Cap. 6, St. Petersburg, Russian Federation, 1-4 July, 1997.

FIEDLER, H.; HOFF H.; TOLLS J.; MERTENS, C.; GRUBER, A.; HUTZINGER, O. Environmental fate of organochlorines in the aquatic environment. *Organohalogen Compounds*, 15: 199 pp. Eco-Infoma press, Bayreuth, 1994.

FURUKAWA, K.; FUJIHARA, H. Microbial degradation of polychlorinated biphenyls: biochemical and molecular features. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 105:433–449, 2008.

- HOLOMAN, T. R. P.; ELBERSON, M. A.; CUTTER, L. A.; MAY, H. D.; SOWERS, K. R. Characterization of a defined 2,3,5,6-tetrachlorobiphenyl-ortho-dechlorinating microbial community by comparative sequence analysis of genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 64:3359-3367, 1998.
- MANZANO, M. A.; PERALES, J. A.; SALES, D.; QUIROGA, J. M. Microbial degradation and chemical oxidation of sandy sediment contaminated with polychlorinated biphenyl. *Environmental Engineering Science*, 20:91-101, 2003.
- MOHN, W. W.; TIEDJE, J. M. Microbial reductive dechlorination. *Microbiological Reviews*, 56, 482-507, 1992.
- MORAES, E. M.; ADORNO, M. A. T.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Determinação de ácidos voláteis por cromatografia gasosa em efluentes de reatores anaeróbios tratando resíduos líquidos e sólidos; *In: VI Oficina e Seminário Latino-Americano de Digestão Anaeróbia*, Recife- PE. Editora Universitária - UFPE, p. 2813-2823, 2000.
- NAGPAL, N. K. Water quality criteria for polychlorinated biphenyls. *Water Quality Branch, Water Management Division*, Ministry of Environment, Lands and Parks, Victoria, BC, 1992.
- OSPAR, Polychlorinated Biphenyls (PCBs). *OSPAR Priority Substance Series*, OSPAR Commission, London, 2001.
- PENTEADO, J. C. P.; VAZ, J. M. O legado das Bifenilas Policloradas (PCBs). *Química Nova*, Vol.24, N°. 3, 390-398, 2001.

QUENSEN III, J. F.; TIEDJE, J. M.; BOYD, S. A. Reductive dechlorination of Polychlorinated Biphenyls by anaerobic microorganisms from sediments, *Science*, 242, 1988.

QUENSEN III, J.F., BOYD, S.A., TIEDJE, J.M. Dechlorination of four commercial Polychlorinated Biphenyl mixtures (Aroclors) by anaerobic microorganisms from sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 2360-2369, 1990.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring anaerobic digestion of high-strength wastes. *Journal of Water Pollution Control Federation*, v.58, p.406-411, 1986.

ROJAS-AVELIZAPA, N. G.; RODRIGUEZ-VAZQUEZ, R.; ENRIQUEZ-VILLANUEVA, F.; MARTINEZ-CRUZ, J.; POGGI-VARALDO, H. M. Transformer oil degradation by an indigenous microflora isolated from a contaminated soil. *Resources Conservation and Recycling*, 27:15-26, 1999.

ROSS, G. The public health implications of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the environment. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 59, 274-291, 2004.

SÃO PAULO. Lei nº 12.288 de 22 de fevereiro de 2006. Dispõe sobre a eliminação controlada dos PCBs e dos seus resíduos, a descontaminação e da eliminação de transformadores, capacitores e demais equipamento elétricos que contenham PCBs, e dá providências correlatas. *Diário Oficial do Estado*, São Paulo, SP, 23 fev. 2006.

SEEGER, M.; TIMMIS, K. N.; HOFER, B. Bacterial pathways for the degradation of polychlorinated biphenyls. *Marine Chemistry*, 58:327–333, 1997.

TANABE, S. PCB problems in the future: Foresight from current knowledge.

Environmental Pollution, 50, 5-28, 1998.

TIEDJE, J. M.; QUENSEN III, J. F.; CHEE-STANFORD, J.; SCHIMEL, J. P.; BOYD,

S. A. Microbial reductive dechlorination of PCBs. *Biodegradation*, 3: 231-240, 1993.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). Inventory of World-

wide PCB Destruction Capacity. First Issue. *United Nations Environment Programme Chemicals*, December, 1998.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). Inventory of World-

wide PCB Destruction Capacity. Second Issue. *United Nations Environment Programme Chemicals*, December, 2004.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). Stockholm Convention

on Persistent Organic Pollutants. Third meeting. *United Nations Environment Programme Chemicals*, December 2006.

VALE, L. A. S. Hidrodescloração Catalítica de Bifenilas Policloradas (PCBs).

Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, USP, São Paulo, 2008.

VAN DORT, H. M.; BEDARD, D. L. Reductive ortho and meta dechlorination of a

Polychlorinated Biphenyl congener by anaerobic microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 57, 1576-1578, 1991.

VAZOLLER, R. F. Avaliação do ecossistema microbiano de um biodigestor

anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com vinhaça sob condições termofílicas. *Tese de Doutorado*, EESC, USP, São Carlos, 1995.

- WOLIN, E. A.; WOLIN, M. J.; WOLFE, R. S. Formation of methane by bacterial extracts. *The Journal of Biological Chemistry*, v.238, p.2882-2886, 1963.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Environmental Health Criteria 140: Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls. *World Health Organization*, Geneva, 1993.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Environmental Health Criteria 2: Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls, second ed. *World Health Organization*, Geneva, 1976.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Environmental Health Series 23: PCBs, PCDDs, and PCDFs: Prevention and control of accidental and environmental exposures, *World Health Organization*, Regional Office for Europe, Copenhagen, 1987.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Concise International Chemical Assessment Document 55: Polychlorinated Biphenyls Human Health Aspects. *World Health Organization*, Geneva, 2003.
- ZAIAT, M.; CABRAL, A.K.A.; FORESTI, E. Horizontal-flow anaerobic immobilized sludge reactor for wastewater treatment: Conception and performance evaluation. *Revista Brasileira de Engenharia – Caderno de Engenharia Química*, v.11, p.33-42, 1994.
- WIEGEL, J., WU, Q., Microbial reductive dehalogenation of polychlorinated biphenyls. *FEMS Microbiol Ecol*; 32:1–15, 2000.

8. ANEXOS

Tabela 8.1 – Produção de metano. Valores médios de metano mmol/g de STV

Tempo (min)	Reator 1	Reator 2	Reator 3	Reator 4	Reator 5	Reator 6	Reator 7	Reator 8	Reator 9
120	0,000638689	0,001118	0,001071	0,000987	0,001123	0,00096	0,001182	0,000738	0,001325
240	0,000689488	0,001672	0,001659	0,001455	0,001524	0,001143	0,001518	0,000749	0,001782
330	0,000584921	0,001633	0,001635	0,0016	0,001495	0,001184	0,001607	0,000654	0,001937
470	0,000602691	0,001705	0,001915	0,001802	0,001856	0,001504	0,001756	0,000666	0,002629
600	0,000534903	0,001938	0,002035	0,001918	0,001971	0,001537	0,001935	0,000641	0,002907
780	0,000523223	0,002193	0,002204	0,002125	0,002171	0,001429	0,002078	0,000545	0,003212
960	0,000547719	0,002764	0,002733	0,002614	0,002692	0,001654	0,002428	0,000624	0,003657
1140	0,000474655	0,002682	0,002551	0,002562	0,002626	0,001495	0,002385	0,000573	0,003763
1320	0,00046658	0,002913	0,002974	0,002781	0,00281	0,001468	0,002366	0,000525	0,004129
1590	0,000359987	0,003165	0,002867	0,00311	0,004938	0,002264	0,004452	0,000743	0,005044
2670	0,000421464	0,006864	0,006455	0,00657	0,00605	0,001855	0,005521	0,000641	0,007198
3090	0,00041948	0,006501	0,007155	0,006783	0,006875	0,002391	0,006344	0,000739	0,010294
3330	0,000433016	0,0068	0,007083	0,00736	0,007233	0,002483	0,006636	0,000808	0,011194
4110	0,000278831	0,006541	0,007435	0,00791	0,007718	0,003228	0,007566	0,001326	0,011518
4560	0,000435604	0,006395	0,007704	0,007701	0,007189	0,003271	0,00729	0,001574	0,011227
5730	0,000414246	0,00618	0,007641	0,008128	0,008468	0,003152	0,007022	0,002449	0,010326
7500	0,000379928	0,005622	0,010345	0,012213	0,009147	0,002903	0,006271	0,002811	0,00957
8660	0,000405561	0,006037	0,011067	0,009557	0,009825	0,003205	0,006611	0,003279	0,009409
9915	0,000392761	0,005771	0,018432	0,012418	0,009123	0,002961	0,006404	0,00316	0,009215
11430	0,000371874	0,005265	0,017	0,011604	0,008855	0,002835	0,006243	0,003008	0,008644
12795	0,000371073	0,005179	0,016	0,01134	0,008675	0,002807	0,00608	0,00302	0,008588
14550	0,000338082	0,005232	0,015698	0,010877	0,008503	0,002855	0,006129	0,002961	0,009265
17370	0,000306796	0,005262	0,015143	0,010795	0,008406	0,002839	0,00633	0,00303	0,008056
20130	0,000285956	0,005144	0,012772	0,01033	0,008316	0,002778	0,00595	0,003024	0,007472

Tabela 8.2 – RAHLF Perfis

	DQO		pH	
	1º Perfil	2º Perfil	1º Perfil	2º Perfil
Alimentação	1810,71	1737,47	Alimentação	7,76 7,88
Afluente	968,1415	1816,155	Afluente	7,61 7,9
L/D=1	-	-	L/D=1	7,8 7,7
L/D=5	999,90135	325,52	L/D=5	7,72 7,64
L/D=10	899,204	-	L/D=10	7,8 7,77
L/D=14	975,683	-	L/D=14	7,62 7,72
Efluente	29,8927	674,385	Efluente	7,77 7,62

Tabela 8.3 - RAHLF pH

Tempo (dias)	pH Efluente
0	
3	7,46
6	7,29
10	7,5
13	7,7
17	7,9
20	7,51
24	7,71
27	7,8
34	7,78
41	7,9
45	7,8
48	7,91
52	7,81
62	7,72
69	7,97
76	7,76
80	8,04
84	7,74
87	7,79
91	7,59
94	7,66
97	7,81
103	8,05
105	7,68
108	7,68
112	7,73
115	7,75
121	7,9
122	7,67
126	7,67
129	7,71
136	7,76
147	7,7
150	7,89
157	7,87
164	7,82
171	7,66
178	7,64
185	7,94
192	7,9
199	7,9
206	7,77

213	7,65
227	7,71
234	7,77

Tabela 8.4 - RAHLF
DQO Efluente

Tempo (dias)	pH Efluente
3	312,72
6	69,75
10	34,16
13	20,66
17	20,66
20	41,52
24	58,70
27	26,80
31	19,43
34	61,16
37	63,99
41	40,35
45	26,67
48	29,16
52	57,77
56	27,91
62	25,42
66	8,01
69	41,60
76	45,33
77	9,36
78	23,62
79	31,41
80	45,67
81	98,84
83	128,67
84	124,78
85	140,34
86	145,53
87	120,89
89	154,61
91	140,34
92	161,09
93	211,67
94	94,95
97	1741,95
98	228,53

100	177,95
101	177,95
104	70,31
105	87,17
108	59,94
112	54,75
115	60,48
119	384,25
120	317,96
121	256,78
122	147,16
125	98,72
126	122,94
129	3,13
133	13,32
136	60,48
140	77,05
143	29,89
147	85,98
150	36,27
154	78,33
157	96,17
161	52,84
164	85,79
171	119,06
174	209,56
178	76,47
182	100,43
185	85,79
189	162,98
192	60,50
196	69,82
199	67,16
203	100,43
206	64,49
213	59,17
217	59,17
220	32,24
224	13,83
227	61,90
231	26,14
232	674,39
234	73,26
238	13,09
240	2,64
246	19,92

Tabela 8.5 - RAHLF
DQO Afluente

Tempo (dias)	pH Afluente
3	1241,912
10	1305,764
17	2241,176
24	2346,532
31	2499,776
37	2538,088
45	1916,405
52	1965,491
62	2278,213
69	2499,1
77	1491,119
80	1215,01
84	1011,348
87	1243,033
93	2334,2
97	1879,2
108	1369,84
119	1996,9
126	1589,24
136	1562,4
143	1595,95
150	1605,75
161	1646,2
171	1655,48
182	1665,55
196	1982,65
213	1627,12
220	1576,6
231	1615,95
232	1737,5
240	1671,55

Tabela 8.6 –
Alcalinidade Total

Tempo (dias)	Alcalinidade Total (mgCaCO3/L)
3	723
6	857.96
10	1118.24

13	1194.396
17	1089.32
20	729.748
24	1008.344
27	1064.256
34	1087.064
41	1071.44
45	1123.36
48	1099.76
52	1080.88
62	1038.4
69	1071.44
80	977.592
84	991.452
87	1068.144
91	1053.36
94	1067.22
97	1071.84
103	1044.12
105	1062.6
108	1085.7
112	1081.08
115	1058.904
121	1148.532
122	1118.04
126	1062.6
129	1085.7
136	1045.968
147	1142.064
150	1113.42
157	1050.056
164	1049.104
171	1077.664
178	1025.304
185	1107.176
192	1155.728
206	1039.584
213	1147.16
227	1066.24
234	1070.048

Tabela 8.7 – Metano
RAHLF

Tempo (dias)	Metano (média dos pontos de coleta) mmol CH ₄
91	0.026498
100	0.029343
107	0.022448
115	0.030178
120	0.004647
125	0.012856
129	0.028384
136	0.02828
139	0.030221
146	0.031793
150	0.03794
157	0.008118
164	0.011445
171	0.015041
206	0.017078
220	0.014454
227	0.015677
232	0.017336
234	0.017329

