

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
ENGENHARIA AMBIENTAL

**Produção de metano em reator anaeróbio em batelada com biomassa imobilizada e
planctônica na presença de Ascarel**

Aluna: Taís Hamamoto

Orientadora: Profa. Dra. Maria Bernadete A. Varesche

Monografia apresentada ao curso de
graduação em Engenharia Ambiental da
Escola de Engenharia de São Carlos da
Universidade de São Paulo.

São Carlos

2012

Taís Hamamoto

**Produção de metano em reator anaeróbio em batelada com biomassa imobilizada e
planctônica na presença de Ascarel**

Monografia apresentada ao curso de
graduação em Engenharia Ambiental da
Escola de Engenharia de São Carlos da
Universidade de São Paulo.

Área de estudo: Engenharia Ambiental
Orientadora: Profa. Dra. Maria Bernadete
A. Varesche

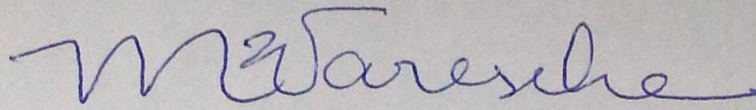
São Carlos

2012

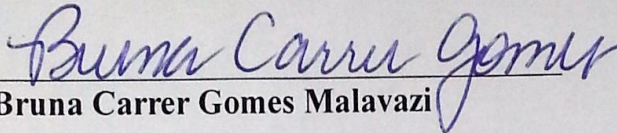
FOLHA DE APROVAÇÃO

Candidato(a): **Tais Hamamoto**

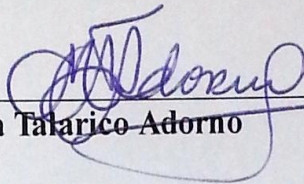
Monografia defendida e aprovada em: **28/06/2012** pela Comissão Julgadora:



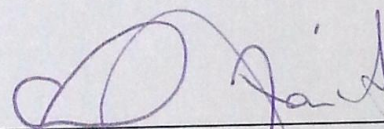
Profa. Maria Bernadete Amancio Varesche Silva



Bruna Carrer Gomes Malavazi



Maria Angela Talarico Adorno



Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

Aos meus pais e minha avó, Silvana, Toshio e Idesuíta, que mesmo longe, sempre cuidaram
de mim. Sem eles, nada seria possível.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Maria Bernadete A. Varesche, pela oportunidade dada e pela orientação ao longo de todo o meu trabalho.

À Dra. Regiane Cristina Corrêa, pela paciência com a minha falta de destreza com reagentes e reatores, por me ensinar sobre a academia e pesquisa e por ter sido muito mais do que uma companheira de trabalho.

Ao Henrique e à Mara, meus companheiros de trabalho que também me ensinaram muito nestes anos de convivência.

Aos meus amigos *Persoras*, que tornaram a faculdade uma fase única na minha vida. Um agradecimento especial ao Du, que participou dos momentos cruciais desta vida laboratorial, me contando sobre o projeto em 2008 e me ajudando com este Trabalho de Graduação em 2012.

Aos moradores da C-4, que agora não são mais *as pessoas que moram com o meu namorado*, e sim *meus amigos*.

Ao Thomas, que foi mais do que um namorado. Foi companheiro de trabalho, amigo, conselheiro, revisor. Suportou todas as minhas crises e anseios, me ajudou de todas as formas que podia e não podia para que os meus planos dessem certo. Todas as minhas conquistas possuem um pouquinho de você.

À minha família, que se sacrificou ao longo de toda a vida para que eu pudesse me formar um dia na USP. O meu bacharel é de vocês também.

À todos do LPB que em algum momento, sanaram minhas dúvidas e auxiliaram neste trabalho.

À EESC e todos os seus funcionários.

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

A Deus, pois sem ele eu não estaria aqui.

“Disse a flor para o pequeno príncipe: *é preciso que eu suporte duas ou três larvas se quiser
conhecer as borboletas.*”

Antoine de Saint-Exupéry, O pequeno príncipe.

RESUMO

HAMAMOTO, T. **Produção de metano em reator anaeróbio em batelada com biomassa imobilizada e planctônica na presença de Ascarel.** 2012. 49f. Monografia (Bacharel) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2012.

Bifenilas policloradas, foram utilizadas na formação do Ascarel, óleo empregado em transformadores e equipamentos eletroeletrônicos que possui alta toxicidade e potencial carcinogênico. Alternativa viável para sua degradação é a biodegradação anaeróbia, contudo não existem muitos estudos sobre este assunto. Reatores em batelada foram utilizados em dois ensaios para avaliar o potencial metanogênico na degradação anaeróbia do Ascarel, em meio nutricional Angelidaki, com sulfeto de sódio. O primeiro, sem esgotamento prévio da matéria orgânica, foi composto pelos reatores: **R1** (Biomassa em Suspensão), considerado “Controle”; **R2** (Biomassa em Suspensão, Etanol); **R3** (Biomassa em Suspensão, Etanol, Ascarel); **R4** (Biomassa em Suspensão, Ascarel); **R5** (Biomassa imobilizada em Espuma de Poliuretano, Etanol, Ascarel, Formiato); **R6** (Espuma, Ascarel, Formiato); **R7** (Biomassa imobilizada em Carvão Vegetal, Etanol, Ascarel, Formiato); **R8** (Carvão, Ascarel, Formiato); **R9** (Espuma, Formiato); e **R10** (Carvão, Formiato). O segundo, com esgotamento prévio da matéria orgânica foi realizado nas mesmas condições mencionadas anteriormente, mais duas configurações: **R11** (Biomassa em Suspensão, Etanol, Formiato); **R12** (Biomassa em Suspensão, Ascarel, Formiato). Os resultados de produção máxima obtidos para ensaio sem esgotamento foram (em mmolCH₄/gSTV): 0,0016 (**R1**); 0,0387 (**R2**); 0,0433 (**R3**); 0,0031 (**R4**); 0,0440 (**R5**); 0,0247 (**R6**); 0,0374 (**R7**); 0,0048 (**R8**); 0,0057 (**R9**); 0,0046 (**R10**). Os resultados de produção máxima obtidos para ensaio com esgotamento foram (em mmolCH₄/gSTV): 0,0005 (**R1**); 0,0239 (**R2**); 0,0226 (**R3**); 0,0009 (**R4**); 0,0242 (**R5**); 0,0027 (**R6**); 0,0146 (**R7**); 0,0031 (**R8**); 0,0025 (**R9**); 0,0028 (**R10**); 0,0255 (**R11**); 0,0023 (**R12**). Constatou-se, no primeiro ensaio, que a melhor condição para produção de metano foi a do **R3** (Suspensão, Etanol, Ascarel) e **R5** (Biomassa imobilizada em Espuma de Poliuretano, Etanol, Ascarel, Formiato). No segundo, a maior produção foi obtida no **R2** (Suspensão, Etanol); **R3** (Suspensão, Etanol, Ascarel); **R5** (Biomassa imobilizada em Espuma de Poliuretano, Etanol, Ascarel, Formiato) e **R11** (Suspensão, Etanol, Formiato). Portanto, essa produção máxima foi quase que integralmente dependente da presença de etanol. Através de análises microscópicas, constatou-se predomínio de bacilos fluorescentes, além de morfologias similares as arqueias metanogênicas (*Methanosaeta* e *Methanosarcina*) foram constatadas nas amostras dos reatores anaeróbios do ensaio com esgotamento.

Palavras-chave: Bifenila Policlorada, espuma de poliuretano, carvão vegetal, etanol.

ABSTRACT

HAMAMOTO, T. **Methane production in anaerobic batch reactor containing Ascarel as organic substrate with immobilized and planktonic biomass.** 2012. 49p. Monograph (Graduate) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2012.

Polychlorinated biphenyls were used in the formation of Ascarel oil used in transformers and electronic equipment that has high toxicity and carcinogenic potential. Viable alternative to its degradation is anaerobic biodegradation, however there are many studies on this subject. Batch reactors were used in two trials to evaluate the potential of anaerobic methanogenic degradation Ascarel in nutritional Angelidaki medium with sodium sulfide. The first, without the prior exhaustion of the organic matter is composed of reactors: R1 (Biomass Suspension), considered the "Control", R2 (Suspended Biomass, ethanol), R3 (Suspended Biomass, Ethanol, Ascarel), R4 (Biomass Suspension, Ascarel), R5 (biomass immobilized in polyurethane foam, Ethanol, Ascarel, formate), R6 (Foam, Ascarel, formate), R7 (Biomass immobilized in Charcoal, Ethanol, Ascarel, formate), R8 (Coal, Polychlorinated Biphenyls, formate), R9 (Foam, formate) and R10 (Coal, formate). The second, with the prior exhaustion of organic matter was taken under the same conditions mentioned above, plus two configurations: R11 (Suspended biomass, ethanol, formate), R12 (Biomass Suspension, Ascarel, formate). The results obtained for maximum production without depletion assay were (in mmolCH₄/gSTV): 0.0016 (R1), 0.0387 (R2), 0.0433 (R3), 0.0031 (R4), 0.0440 (R5), 0.0247 (R6) 0.0374 (R7), 0.0048 (R8), 0.0057 (R9), 0.0046 (R10). The results obtained for maximum production depletion assay were (in mmolCH₄/gSTV): 0.0005 (R1), 0.0239 (R2), 0.0226 (R3), 0.0009 (R4), 0.0242 (R5), 0.0027 (R6) 0.0146 (R7), 0.0031 (R8), 0.0025 (R9), 0.0028 (R10), 0.0255 (R11), 0.0023 (R12 .) We found that, in the first trial, that the best condition for methane production was the R3 (Suspension, Ethanol, Ascarel) and R5 (biomass immobilized in polyurethane foam, Ethanol, Ascarel, formate). In the second, higher yields in R2 (Suspension, ethanol), R3 (Suspension, Ethanol, Ascarel), R5 (biomass immobilized in polyurethane foam, Ethanol, Ascarel, formate) and R11 (Suspension, ethanol, formate). Therefore, the maximum yield was almost completely dependent on the presence of ethanol. Through microscopic analysis, we found a predominance of fluorescent bacilli, and morphologies similar to methanogenic archaea (Methanosaeta and Methanosarcina) were found in samples from anaerobic reactors of the test with exhaustion.

Key-words: Polychlorinated bipheyl, polyurethane foam, charcoal, ethanol

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Usos industriais das Bifenilas Policloradas	29
Tabela 2. Marcas registradas de PCBs	31
Tabela 3. Poluentes Orgânicos Persistentes estabelecidos pela Convenção de Estocolmo.....	34
Tabela 4. Níveis aceitáveis de concentração de PCB em equipamentos, de acordo com a ABNT/NBR 8371	35
Tabela 5. Prazos para a eliminação de transformadores, capacitores e demais equipamentos eletrônicos contendo PCB, no estado de São Paulo.	35
Tabela 6. Meio de cultivo Angelidaki e Solução de Vitaminas proposta por Wolin usados nos ensaios	45
Tabela 7. Composição dos reatores em batelada dos ensaios sem esgotamento e com esgotamento da matéria orgânica	48
Tabela 8. Produções máximas de metano e tempo decorrido dos ensaios sem esgotamento e com esgotamento da matéria orgânica.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. a) Estrutura da molécula bifenila; (b) Estrutura da molécula PCB (2,3', 4, 5,5'-pentaclorobifenila).....	30
Figura 2. Fluxograma experimental dos ensaios de produção de metano em reatores batelada contendo Ascarel	43
Figura 3. Reatores anaeróbios em batelada	46
Figura 4. Configuração dos reatores anaeróbios em batelada com biomassa em suspensão, espuma de poliuretano e carvão vegetal	49
Figura 5. Produção de metano no ensaio sem esgotamento da matéria orgânica.....	53
Figura 6. Produção de metano no ensaio com esgotamento da matéria orgânica	54
Figura 7. Bacilos fluorescentes observados em microscópio óptico (2000x)	64
Figura 8. <i>Methanosaeta</i> em contraste de fase observada em microscópio óptico (2000x)	64
Figura 9. <i>Methanosarcina</i> em fluorescência observada em microscópio óptico (2000x).....	65
Figura 10. <i>Methanosarcina</i> em contraste de fase observada em microscópio óptico (2000x)	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ATP	Trifosfato de adenosina
CCDM	Centro de Caracterização e Desenvolvimento de Materiais
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrofotômetro de massa
CLAE/UV	Cromatografia Líquida com Detector de Ultravioleta
CNTP	Condições normais de temperatura e pressão
DGGE	Eletroforese em gel de gradiente desnaturante
ECD	Detector de captura de elétrons
NBR	Norma brasileira
OCN	Octacloronaftaleno
PCB	Bifenila Policlorada
RNAr	Ácido Ribonucléico ribossômico
TCB	Triclorobenzeno
UASB	Reator Anaeróbio de manta de lodo ascendente

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
2. OBJETIVOS	28
2.1. Objetivo Geral	28
2.2. Objetivos Específicos	28
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
3.1. Compostos organoclorados	29
3.2. Legislação Brasileira e a Convenção de Estocolmo	33
3.3. Biodegradação de PCBs	36
3.4. Biodegradação anaeróbia em sedimentos	37
3.5. Esgotamento da matéria orgânica	41
4. MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1. Inóculo	42
4.2. Meio de cultura e PCB	44
4.3. Reatores em Batelada	46
4.4. Ensaio de potencial metanogênico	47
4.5. Composição dos reatores em batelada	47
4.6. Material Suporte	48
4.7. Análise de Metano	49
4.8. Caracterização da diversidade microbiana	51

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	52
5.1. Potencial metanogênico.....	52
5.1.2. Produções máximas de metano.....	56
5.1.3. Considerações finais	61
5.2. Análise da comunidade microbiana.....	63
5.2.1. Exames microscópicos	63
6. CONCLUSÕES.....	66
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

1. INTRODUÇÃO

Muitas das substâncias organocloradas existentes no meio ambiente são persistentes e de difícil degradação, além de estarem associadas a diversos problemas nos organismos devido ao seu potencial toxicológico (CHAVES, 2005). As Bifenilas Policloradas, também conhecidas como PCBs, pertencem a este grupo. São compostos de origem antropogênica, resultantes da cloração catalítica de bifenilas, e inclui mistura complexa de 209 congêneres com diferentes graus de cloração.

A produção industrial dos PCBs foi iniciada em 1920, sendo os Estados Unidos os maiores produtores do composto. Dentre 209 congêneres existentes, 130 estão presentes nestas misturas comerciais (ABRAMOWICZ, 1990; TIEDJE et al. 1993; BORJA et al. 2005). Estima-se que a produção mundial acumulada foi de aproximadamente 1.200.000 toneladas. Pode-se estimar que cerca de 40% entrou para o ambiente e que grande parte do restante ainda está em uso, principalmente em equipamentos capacitores e transformadores antigos (PENTEADO, 2001).

No Brasil, o óleo formado por frações de 50 a 70% de bifenilas policloradas e 30 a 50% de triclorobenzeno (KINNER et al., 1993) foi comercializado sob o nome “Ascarel”.

De acordo com estudos realizados em cobaias e observações das consequências de acidentes envolvendo PCBs, constatou-se que estas substâncias acumulam-se no tecido adiposo, e são associadas a diversas alterações prejudiciais ao organismo. Em casos de contaminação de seres humanos foi verificado que os PCBs causam modificações nas funções reprodutivas dos organismos, hiperpigmentação, problemas oculares, acne ocupacional grave,

causada por contaminação ambiental ou uso industrial de hidrocarbonetos clorados conhecida como cloracne, além da elevação do índice de mortalidade por câncer no fígado e vesícula biliar (PENTEADO, 2001). Após a comprovação de sua periculosidade a produção foi proibida, contudo alguns dos aparelhos que continham o óleo foram trocados e outros permaneceram em atividade até o final da sua vida útil.

Em 2004, as Bifenilas Policloradas juntamente com outros 11 compostos foram listadas como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) na Convenção de Estocolmo, tratado internacional que visa a proteção da saúde humana e do meio ambiente, contra os efeitos destas 12 substâncias químicas, adotada em 2001, e que entrou em vigor em 2004.

As atuais formas de degradação dos PCBs consistem em incinerar o composto ou materiais contaminados. Contudo, este processo acaba gerando outros produtos igualmente ou ainda mais tóxicos e perigosos, como furanos e dioxinas (PENTEADO, 2001), além de possuir outros inconvenientes como o custo do tratamento muito elevado.

Tendo em vista esta dificuldade, a biorremediação é alternativa viável de degradação dos PCBs (CHAVES, 2005). A descloração, que consiste na substituição do cloro presente na molécula por hidrogênio, é mais viável por possibilitar a reciclagem dos materiais sem gerar passivos futuros. A descloração anaeróbia remove cloro de PCBs altamente clorados, inversamente à degradação aeróbia, que transforma somente alguns congêneres com baixo número de cloros (ABRAMOWICZ, 1993), além de conseguir remover o cloro nas posições *meta* e *para* reduzindo, assim, a sua toxicidade (MOHN; TIEDJE, 1992). Pesquisas sobre a descloração anaeróbia foram desenvolvidas visando principalmente à viabilização do processo de biodegradação *in situ*, mas as condições que favorecem o processo ainda não estão completamente esclarecidas.

Neste trabalho foram avaliadas as melhores condições para viabilizar a degradação das bifenilas policloradas, contidas no ascarel, em condição anaeróbia. O teste foi realizado em reatores em batelada, com a adição de formiato como co-substrato e etanol como solvente; e com variação das formas de imobilização de biomassa, como espuma de poliuretano, carvão vegetal ou sem suporte.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Este trabalho teve como objetivo avaliar a produção de metano em reatores anaeróbios em batelada com ascarel.

2.2. Objetivos Específicos

- (i) Avaliar a produção de metano sob diferentes condições nutricionais (etanol, formiato) na presença de Ascarel;
- (ii) Avaliar a influência de meio suporte (espuma de poliuretano, carvão vegetal e biomassa em suspensão) na biodegradação do Ascarel;
- (iii) Caracterizar a diversidade de bactérias e arqueias metanogênicas;
- (iv) Avaliar a influência da matéria orgânica presente no lodo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Compostos organoclorados

As substâncias organocloradas são aquelas que possuem um ou mais átomos de cloro em sua estrutura química orgânica. Existem inúmeros compostos que são largamente utilizados na indústria e em pesticidas, como o pentaclorofenol (derivado de outra substância organoclorada), hexaclorobenzeno (utilizado como conservante para madeiras e como agente antimicrobiano) e as bifenilas policloradas, substâncias empregadas em diversos produtos (Tabela 1) (PENTEADO, 2001; CHAVES, 2005).

Tabela 1. Usos industriais das Bifenilas Policloradas

Usos do PCB
Capacitores Elétricos
Transformadores Elétricos
Bombas de Vácuo
Turbinas de Transmissão de Gás
Fluídos Hidráulicos
Resinas plastificantes
Adesivos
Plastificante de Borracha
Sistema de Transferência de Calor
Aditivo Antichama
Óleos de corte, lubrificantes
Pesticidas
Papel Carbono

Fonte: Penteado, 2001.

As bifenilas policloradas, comumente chamadas de PCB são compostos organoclorados resultantes da reação do grupo bifenila com cloro anidro, na presença de catalisador (ABRAMOWICZ, 1990; TIEDJE et al., 1993; PENTEADO, 2001; BARBALACE, 2003; BORJA et al., 2005). Esses compostos são constituídos por dois anéis de benzeno, com ou sem substituintes, unidos por uma ligação simples carbono-carbono, com até 10 átomos de cloro (Figura 1a). Os vários números e posições do cloro, em substituição ao hidrogênio nos anéis aromáticos da bifenila, resultam nas 209 possíveis estruturas químicas da bifenila, que são denominados congêneres, como exemplo o 2,3',4,5,5'- pentaclorobifenila (Figura 1b) (ABRAMOWICZ, 1990).

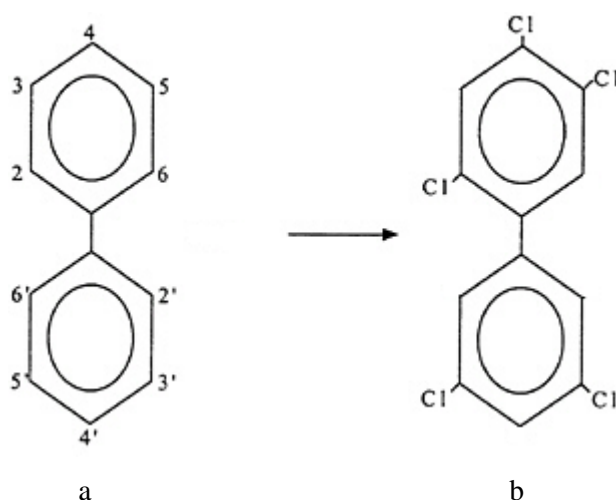


Figura 1. a) Estrutura da molécula bifenila; (b) Estrutura da molécula PCB (2,3', 4, 5,5'- pentaclorobifenila)

Este composto foi conhecido no século XIX na Europa, mas, sua produção em larga escala só iniciou a partir de 1920, principalmente nos Estados Unidos. Os PCBs possuem alta resistência elétrica, propriedades isolantes, são resistentes a ataques de ácidos, bases e produtos corrosivos, são estáveis ao calor e à pressão e não são inflamáveis. Por conta destas peculiaridades, foram amplamente utilizados em diversos setores nas décadas de 30 e 40, como matéria prima de diversos materiais (WAID, 1986).

Estes compostos foram comercializados sob diversos nomes (Tabela 1) e empregados em tintas tipo epóxi, resinas, adesivos sintéticos, tintas têxteis, em papel cópia sem carbono (LARA apud CHAVES, 2005) e, principalmente, em equipamentos eletro-eletrônicos, sendo 60% de sua produção total mundial utilizada em transformadores e capacitores e 15% em fluídos de transferência de calor (PENTEADO, 2001). Contudo, a soma destas características resultou no uso excessivo ambiental, por conseguinte, poluentes ambientais.

Tabela 2. Marcas registradas de PCBs

Aceclor	Chlorinol	Eucarel	PCBs	Solvól
Apirolio	Clophen	Fenchlor	Phenoclor (t,c)	Sovol
Aroclor	Clorphen	Hivar	Polychlorinated	Therminol
Arubren	Delor	Hydol	biphenyl	FR
Asbestol	Diaclor	Inclor	Polychlorobiphenyl	
Ascarel	Dialor	Inerteen	Pydraul	
Bakola 131	Disconon	Kanechlor	Pyralene	
Biclór	Dk	Kennechlor	Pyranol	
Chlorextol	Duconol	Montar	Pyrochlor	
Chlorinated Biphenil	Dykanol	Nepolin	Saf-T-Kuhl	
Chlorinated Diphenil	EEC - 18	No - Flanol	Santotherm FR	
Chlorobiphenyl	Elemex	PCB	Santovac 1 e 2	
			Siclonyl	

Fonte: Penteado, 2001.

Em 1966, a publicação de um artigo, em jornal americano, sobre a descoberta de uma contaminação por PCBs em um arquipélago sueco, despertou interesse em relação ao estudo da persistência dos novos compostos no ambiente (CHAVES, 2005). Dois anos mais tarde, em 1968, os efeitos do PCB na saúde humana começaram a ser documentados em Yusho (Japão); 1600 pessoas foram contaminadas com PCBs ao consumirem óleo de arroz. Estes indivíduos apresentaram sintomas relacionados à dermatites, hiperpigmentação da pele, fortes dores de cabeça, danos no sistema nervoso periférico, fígado e tireóide. Uma criança, cuja

mãe foi afetada, nasceu com baixo peso e desenvolvimento intelectual prejudicado. Mais tarde, em Yu-Cheng, Taiwan, em 1979, mais de 2.000 pessoas ingeriram peixes contaminados com PCB (ATSDR, 2000).

O Brasil também possui casos recentes de contaminação. Em estudos feitos com leite materno no Rio de Janeiro, sendo detectadas PCBs abaixo de $2\mu\text{g/L}$ (PAUMGARTTEN et al. apud CHAVES, 2005). Acredita-se que a população carioca tenha sido primeiramente exposta aos PCBs pelo consumo de peixes contaminados, e em menor escala, via outros produtos alimentares de origem animal (WHO, 1990). No estado de São Paulo, a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) faz levantamentos periódicos sobre os níveis de contaminação da região estuarina de Santo e São Vicente, locais onde foram detectadas quantidades relevantes de PCBs e metais pesados nos sedimentos em 2001 e 2002 (CHAVES, 2005).

Alguns efeitos dos PCBs em animais, como peixes, pássaros e mamíferos, também foram relatados, como ocorrência de falha na reprodução, no desenvolvimento e no sistema imune, danos no fígado, câncer e morte (PENTEADO, 2001).

A ocorrência do PCB no ambiente pode resultar na bioacumulação, processo no qual os seres vivos absorvem e retêm substâncias químicas no seu organismo, causando efeitos crônicos e toxicidade, aumento da concentração nos tecidos, passando pela cadeia alimentar em dois ou mais níveis tróficos. Organismos aquáticos são expostos ao PCB dissolvido na água, adsorvido no sedimento e presente nos alimentos. No ecossistema terrestre, os organismos são contaminados, nos mais baixos níveis tróficos, pela ingestão de solo e presas, além da absorção na pele ou inalação, as quais também podem ocorrer em algumas espécies. Geralmente, os organismos que se encontram no topo da cadeia alimentar sofrem mais riscos à exposição do PCB (NRC, 2001).

De acordo com levantamentos feitos pelo Ministério do Meio Ambiente em seu Estudo sobre as Bifenilas Policloradas, o peso total remanescente de PCBs no Brasil é de 68.000 toneladas.

3.2. Legislação Brasileira e a Convenção de Estocolmo

A Portaria Interministerial (MIC/MI/MME) N°19, de 29 de janeiro de 1981, foi a primeira legislação brasileira referente à proibição do comércio e da fabricação dos PCBs em território nacional. No entanto, essa lei não proibiu que equipamentos já em uso continuassem a ser utilizados até o fim de suas vidas úteis, estimada em aproximadamente 40 anos, ou até que houvesse a necessidade de troca do óleo isolante, que deveria ser feita por outro tipo de óleo dielétrico. A Portaria proibiu também algumas formas de descarte, como em cursos d'água.

Em 26 de outubro de 1982, foi criada a Portaria MINTER 157, que proíbe o lançamento de efluentes líquidos contendo substâncias não degradáveis de alto grau de toxicidade, incluindo PCBs, decorrentes de quaisquer atividades industriais, para preservar as populações que utilizam as águas do rio Paraíba do Sul como manancial de abastecimento.

Em 10 de junho de 1983, foi criada a Instrução Normativa 001 SEMA/STC/CRC, que regulamentou as condições necessárias para o manuseio, armazenagem e transporte de PCB e/ou matérias contaminados por PCB.

A Resolução CONAMA n° 313 29 de outubro de 2002 regulamenta o processo de licenciamento ambiental de atividades industriais produtoras de resíduos perigosos, estabelece que resíduos gerados ou existentes devem ser controlados e que as indústrias devem apresentar à agência ambiental competente informações sobre a geração, características e

destinação final de seus resíduos. As concessionárias de energia elétrica que possuem materiais contaminados com PCBs devem apresentar à agência ambiental competente seus Relatórios de Estoques.

O maior marco internacional em relação às Bifenilas Policloradas aconteceu em Estocolmo (Suécia), no ano de 2001, onde foi assinada a Convenção de Estocolmo ou Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes. O objetivo desta Convenção é proteger a saúde humana e o meio ambiente dos poluentes orgânicos persistentes, através a da eliminação e o banimento de 12 substâncias químicas listadas no documento (Tabela 3), além da adoção de medidas de redução de eliminações não intencionais de dioxinas e furanos, produtos altamente tóxicos. A Convenção abrange também a identificação e eliminação de estoques de produtos agrotóxicos, bem como um inventário dos estoques de PCBs e equipamentos contaminados por este produto. O Brasil ratificou a Convenção em 16 de junho de 2004, tomando-se parte da mesma no dia 14 de setembro de 2004.

Tabela 3. Poluentes Orgânicos Persistentes estabelecidos pela Convenção de Estocolmo

Substância Química
Aldrin
Clordano
Dieldrin
Endrin
Heptacloro
Hexaclorobenzeno
Toxafeno
Bifenilas Policloradas (PCB)
DDT
Dibenzo-p-dioxinas policloradas
Dibenzofuranos policlorados
Mirex

Fonte: Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants.

Após a Convenção de Estocolmo foi reformulada, em 2005, a norma ABNT - NBR 8371, que descreve a forma de manuseio, embalagem, rotulação, armazenamento e transporte de PCB para capacitores e transformadores. Ela define também os níveis aceitáveis de concentração nos equipamentos (Tabela 4).

Tabela 4. Níveis aceitáveis de concentração de PCB em equipamentos, de acordo com a ABNT/NBR 8371

Quantidade de PCB por óleo isolante [mg/kg]	Classificação
1 a 50	Não PCB (não sujeito à legislação)
51 a 500	Contaminado por PCB
Acima de 500	PCB

No Estado de São Paulo, foi criada a Lei 12.288 de 22 de fevereiro de 2006. Este documento dispõe sobre a destinação final de PCB, a proibição de entrada e saída de PCBs neste estado, a menos que seja para sua destinação final, a proibição de comercialização de transformadores sem comprovação laboratorial com teores de PCB dentro do permitido e discorre ainda sobre a proibição da regeneração das propriedades dielétricas dos óleos isolantes com teores de PCBs superiores a 50 mg/kg. A Lei prevê também alguns prazos a serem cumpridos para a eliminação de transformadores, capacitores e demais equipamentos eletrônicos contendo PCB (Tabela 5).

Tabela 5. Prazos para a eliminação de transformadores, capacitores e demais equipamentos eletrônicos contendo PCB, no estado de São Paulo.

Até 2008	Até 2010	Até 2020
Todos que estiverem fora de operação, bem como os demais resíduos de PCBs.	Todos que estiverem em operação instalados em logradouros públicos.	Todos os demais que não se enquadram nas condições anteriores.

A Norma ABNT/NBR 13.882, de 2008, disciplinou os métodos de análise para determinação do nível de PCBs em líquidos isolantes e proibiu o uso de materiais plásticos, estabelecendo que a coleta deveria acontecer de acordo com a NBR-8840, usando um sistema específico para cada equipamento avaliado, buscando prevenir contaminações cruzadas.

O Projeto de Lei 01075/2011, que está tramitando no Congresso Nacional, dispõe basicamente sobre a eliminação controlada dos PCBs e dos seus resíduos, e sobre a descontaminação e a eliminação de transformadores, capacitores e demais equipamentos elétricos que contenham PCB. Trata-se de um Projeto de Lei semelhante à Lei 12.288 em vigor no estado de São Paulo.

3.3. Biodegradação de PCBs

Alguns micro-organismos presentes no meio ambiente podem produzir enzimas capazes de converter compostos orgânicos como o PCB em compostos mais simples, minimizando os seus efeitos tóxicos. A biodegradação pode ocorrer de duas formas: mineralização e cometabolismo. Na mineralização os microrganismos utilizam o poluente como fonte de carbono e energia e no cometabolismo, requerem uma segunda substância como fonte de carbono e energia (BORJA et al., 2005). Caso degradação incompleta ocorrer, pode haver a formação e a acumulação de produtos mais tóxicos.

A biodegradação depende das características estruturais do poluente, de sua solubilidade em água e concentração no meio e, também, de alguns fatores ambientais, tais como, temperatura, pH, presença de substâncias inibidoras ou tóxicas, disponibilidade de aceptores de elétrons e interações entre os microrganismos (BORJA et al., 2005).

A contaminação ambiental por bifenilas policloradas ocorre por congêneres com diferentes graus de cloração. A completa degradação de misturas de PCBs é raramente obtida, uma vez que os compostos altamente clorados não são metabolizados em condição aeróbia.

Pouco se sabe sobre a descloração anaeróbia do PCB, embora se saiba que alguns micro-organismos descloram PCB com ganho de energia para o seu crescimento. Rysavy et al. (2005) verificaram a presença de doadores de elétrons apropriados em sedimento contaminado com a finalidade de estimular a descloração de PCB. Os autores verificaram o efeito da adição de ferro (Fe^0), como doador de elétrons na descloração microbiana de alguns congêneres de PCBs, tais como, 3,4,5-triclorobifenila (3,4,5-CB) e 2,2',3,4,4',5,5'-heptaclorobifenila (2,2',3,4,4',5,5'-CB). Possivelmente, o sedimento já continha população microbiana endógena capaz de desclorar o PCB. Os autores verificaram que a adição de 0,1 g Fe^0/g de sedimento reduziu a fase *lag* pela remoção de cloro nas posições *di-para* em aproximadamente 100 dias. A adição de H_2 (0,001 atm) no *headspace* resultou na mesma atividade de descloração e na redução da fase *lag*.

3.4. Biodegradação anaeróbia em sedimentos

Winchell e Novak (2008) analisaram duas tecnologias de biorremediação, a bioestimulação, método que visa o aumento do número de microorganismos degradantes ou a estimulação da atividade destes em uma área contaminada, e a bioadição, método que consiste na adição de microrganismos na área contaminada com capacidade para degradar o contaminante, em diferentes sedimentos, para observar a degradação do PCB. Bedard et al. (1997), Wu e Wiegel (1997) sugeriram que a bioadição pode melhorar a descloração do PCB,

mas é necessária a adição concomitante de um bioestimulante. Rysavy et al. (2005) observaram descloração do PCB, após adição de um doador de elétron, o ferro elementar (Fe^0) como bioestimulante. A bioadição e bioestimulação podem ser mais efetivas na descloração de PCB do que, somente, um ou outro processo isoladamente.

Chen et al. (1988) utilizaram sedimento coletado do rio Hudson (EUA) para a observação de biodegradação anaeróbia de Aroclor 1221 (mistura de bifenilas policloradas). Bactérias degradadoras de PCB foram isoladas do sedimento do rio Hudson e enriquecidas em meio contendo 20mg/L de Aroclor 1221. Após 40 dias, 1 mL da cultura foi transferido para meio de enriquecimento. Mais três transferências foram realizadas antes das populações serem utilizadas no experimento. Três frascos de cultura, contendo 30 ppm de PCBs, receberam os seguintes tratamentos: (1) um deles recebeu 1 mL de meio mineral reduzido para determinar a atividade da microflora indígena; (2) outro, recebeu mistura da cultura isolada, para estudar a sua atividade no sedimento e (3) um terceiro foi utilizado como controle e recebeu 2 mL de formalina (30%). Estas preparações de sedimento foram vigorosamente agitadas (200 rpm) por 5 meses à temperatura ambiente. Os autores determinaram o PCB e metano por cromatografia gasosa. Os autores verificaram completa degradação anaeróbia das bifenilas cloradas, todavia, gás metano não foi detectado em nenhuma condição. Após 105 dias de incubação, a quantidade de congêneres de PCBs foi de 15,19 $\mu\text{g/mL}$ no experimento controle, 2,87 $\mu\text{g/mL}$ com a microflora indígena e 2,57 na cultura isolada. Desse modo, os autores salientaram que os s congêneres de PCBs podem ser degradados anaerobiamente e que esses compostos podem ser utilizados como fonte de carbono e energia pelos microrganismos responsáveis pela degradação.

Um consórcio microbiano anaeróbio (ATCC 55616) proveniente de sedimentos foi crescido e mantido em grânulos de reator UASB à temperatura ambiente (NATARAJAN et al., 1999). Bifenila fornecida como única fonte de carbono e energia foi degradada,

culminando com a produção de metano. Após 50 dias de operação ocorreu a degradação de cerca de 75 % da bifenila inicial (42,2 μmol). A velocidade de degradação da bifenila foi de 0,61 $\mu\text{mol}/\text{dia}$. Um produto intermediário originado do rompimento do anel de bifenila, *p*-cresol, foi detectado, e mineralizado a produtos finais e gás. A produção de *p*-cresol foi analisada por cromatografia líquida e confirmada por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG-EM). O *p*-cresol não foi acumulado, pois a velocidade de degradação foi alta, cerca de 1,55 $\mu\text{mol}/\text{dia}$. A produção de metano aumentou com a correspondente diminuição da concentração de *p*-cresol. Assim, por exemplo, em 40 dias, 62 μmol de *p*-cresol foram completamente degradados, com formação de 192 μmol de metano.

Cutter et al. (2001) estudaram a descloração reductiva de PCBs por bactérias anaeróbias em sedimentos aquáticos. Sequências do RNAr16S, obtidas de cultura enriquecida com bactérias degradadoras de *orto*-PCB foram monitoradas pela técnica de Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE). Os autores correlacionaram a oxidação de acetato ou hidrogênio à redução de 2,3,5,6-CB (clorobifenila) a 2,3,5-CB e a 3,5-CB. Portanto, estes foram os primeiros pesquisadores a identificar bactérias anaeróbias degradadoras de PCB, que utilizaram acetato e 2,3,5,6-tetraclorobifenila. Os microrganismos identificados como bactéria *o*-17 apresentaram sequência de RNAr16S muito semelhante às bactérias verdes não-sulfurosas e com *Dehalococcoides ethenogenes*. A bactéria *o*-17 utilizou acetato para a descloração e crescimento. Portanto, *o*-17 foi capaz de desclorar o PCB a partir de três evidências constatadas pelos autores. Uma delas é que o RNAr 16S da *o*-17 foi detectado durante a descloração do PCB e, somente, quando havia PCB no meio. Outra evidência é que não ocorreu a descloração quando *o*-17 foi eliminada sistematicamente da cultura e a terceira evidência foi que RNAr 16S da *o*-17 foi similar ao *Dehalococcoides* spp., microrganismos que reduzem compostos organoclorados.

A disponibilidade de informação filogenética sobre bactérias descloradoras de PCB permite a análise detalhada das comunidades microbianas indígenas e seu monitoramento durante um processo de biorremediação de PCB. Desse modo, pode-se acelerar o processo pela introdução de uma população previamente enriquecida de bactérias descloradoras de PCB. Esta biorremediação estratégica é denominada de bioadição e sua aplicação é muito importante no tratamento de compostos orgânicos recalcitrantes, tais como derivados de petróleo, solventes organoclorados e herbicidas.

Yan et al. (2006) investigaram o efeito da adição de culturas descloradoras de PCB em três diferentes sedimentos, em termos de atividade de descloração e estrutura da comunidade microbiana. Culturas descloradoras de PCB derivadas de sedimentos estuarinos e com boa atividade de degradação foram misturadas e inoculadas em sedimentos estéreis oriundos da mesma fonte, do Porto Baltimore, sedimento marinho de Palos Verdes e do Rio Hudson. Os autores observaram que a origem do sedimento e sua composição química podem afetar significativamente a atividade e a estrutura da comunidade microbiana. Os autores verificaram que a sobrevivência e o enriquecimento de uma população microbiana particular foram resultantes da disponibilidade de macro e micro-nutrientes. O impacto que os diferentes sedimentos tiveram sobre o crescimento dos microrganismos, sugeriu a caracterização preliminar do local contaminado para que a bioadição ocorra com sucesso.

3.5. Esgotamento da matéria orgânica

A produção de metano em ensaios consiste em um parâmetro de monitoramento da eficiência da população metanogênica presente em um reator biológico e, como tal, constitui uma importante ferramenta para o controle operacional de reatores anaeróbios (FORESTI et al apud AQUINO, 2007). Angelidaki (2009) recomendou que o lodo utilizado nestes ensaios fosse proveniente de reatores anaeróbios, e de composição microbiana variada, para que não haja limitações de substratos em relação ao uso do inóculo. Aquino (2007) e Angelidaki (2009) em seus protocolos para ensaios metanogênicos, também sugerem que haja previamente ao ensaio de potencial metanogênico, o esgotamento da matéria orgânica existente no lodo, a fim de evitar que a produção de gás proveniente do lodo leve a falsos resultados.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Inóculo

O lodo granulado proveniente de reator UASB, usado no tratamento de água residuária de avicultura (Avícola Dacar, Tietê, SP) foi triturado em liquidificador industrial para facilitar a adsorção pelos materiais suporte, carvão vegetal e espuma de poliuretano, e usado como inóculo nos reatores em batelada, contendo meio Angelidaki e solução de vitaminas (Figura 2).

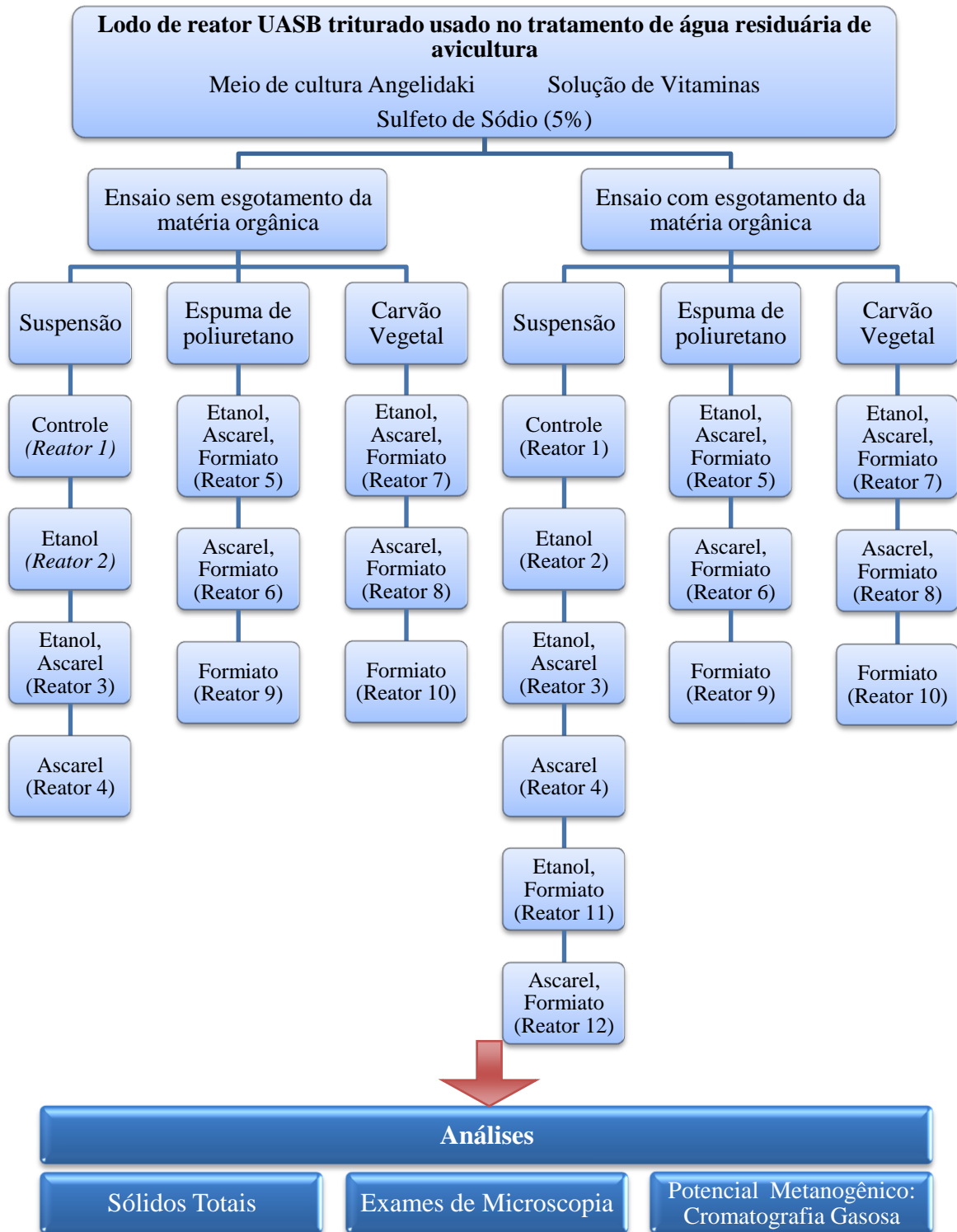


Figura 2. Fluxograma experimental dos ensaios de produção de metano em reatores batelada contendo Ascarel

4.2. Meio de cultura e PCB

O substrato orgânico “Ascarel”, fonte de PCBs, foi gentilmente cedido pela 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 – no. série P 8775 NGE – TRTCM 30031).

Como meio de cultura, utilizou-se meio de cultivo Angelidaki (ANGELIDAKI et al. 1990), e solução de vitaminas de acordo com Wolin et al., 1963, preparado de acordo com as técnicas para a manipulação de anaeróbios estritos como descritos por Vazoller (1995) e indicados na Tabela 6.

Tabela 6. Meio de cultivo Angelidaki e Solução de Vitaminas proposta por Wolin usados nos ensaios

Componente	Cestoque (g/L)	V (mL)	Csolução (mg/L)
1. Meio basal (Angelidaki <i>et al.</i> , 1990)			
<i>Solução A</i>			
NH ₄ Cl	100	10	1000
NaCl	10		100
MgCl ₂ ·6H ₂ O	10		100
CaCl ₂ ·2H ₂ O	5		50
<i>Solução B</i>			
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	200	2	400
<i>Solução C (metais traços e selenito)</i>			
FeCl ₂ ·4H ₂ O	2	1	2
H ₃ BO ₃	0,05		0,05
ZnCl ₂	0,05		0,05
CuCl ₂ ·2H ₂ O	0,038		0,038
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,05		0,05
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0,05		0,05
AlCl ₃	0,05		0,05
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,05		0,05
NiCl ₂ ·6H ₂ O	0,092		0,092
EDTA	0,5		0,5
HCl concentrado	1 mL		1 µL/L
Na ₂ SeO ₃ ·5H ₂ O	0,1		0,1
2. Vitaminas (Wolin <i>et al.</i> , 1963)			
Ácido fólico	0,010	2	0,020
Ácido p-aminobenzóico	0,025		0,050
Ácido pantotênico	0,025		0,050
Ácido tióico	0,025		0,050
Biotina	0,010		0,020
Vitamina B1 (Tiamina)	0,025		0,050
Vitamina B2 (Riboflavina)	0,025		0,050
Vitamina B5 (Nicotinamida)	0,025		0,050
Vitamina B6 (Piridoxina)	0,050		0,100
Vitamina B12 (Cianocobalamina)	0,0001		0,0002

4.3. Reatores em Batelada

Os ensaios foram realizados em reatores em batelada, em frascos de antibióticos de 100 mL, vedados com tampas revestidas com Teflon e lacres de alumínio, com volume reacional (50 mL) constituído por meio de cultura com solução macro e micro mineral, além do inóculo (10%) e 50 mL de *headspace* composto por 70% de N₂ e 30% de CO₂, mantidos sob agitação a 150 rpm em estufa com agitação orbital (Nova Analítica) e temperatura de 30°C.



Figura 3. Reatores anaeróbios em batelada

4.4. Ensaio de potencial metanogênico

Foram realizados dois ensaios em reatores em batelada para avaliar o potencial metanogênico da degradação do Ascarel, sendo um deles sem esgotamento da matéria orgânica proveniente do inóculo (lodo granulado de reator UASB) e o segundo, com esgotamento da matéria orgânica. Nos dois ensaios foram avaliados a necessidade da presença ou não de material suporte para imobilizar a biomassa, utilizando três condições: biomassa planctônica, biomassa imobilizada em carvão vegetal e em espuma de poliuretano. Além disso, foi avaliada também a adição de etanol, como solvente e formiato como co-substrato.

4.5. Composição dos reatores em batelada

O ensaio sem esgotamento da matéria orgânica (ensaio 1) foi executado em 10 reatores. O ensaio com esgotamento da matéria orgânica (ensaio 2) foi feito com 12 diferentes composições, sendo as 10 primeiras idênticas nos dois ensaios. A descrição da composição de cada reator está listada na Tabela 7.

Tabela 7. Composição dos reatores em batelada dos ensaios sem esgotamento e com esgotamento da matéria orgânica

Reator	Material suporte	Inóculo (mL)	Meio Angelidaki (mL)	Sulfeto de sódio 5% (mL)	Etanol (46 g/L) (mL)	Ascarel (mL)	Formiato (680 mg/L) (mL)
R1 (controle)	Suspensão	5	44,7	0,3	-	-	-
R2	Suspensão	5	44,2	0,3	0,5	-	-
R3	Suspensão	5	43,7	0,3	0,5	0,5	-
R4	Suspensão	5	44,2	0,3	-	0,5	-
R5	Espuma Pol.(0,26g)	5	43,4	0,3	0,5	0,5	0,3
R6	Espuma Pol.(0,26g)	5	43,9	0,3	-	0,5	0,3
R7	Carvão Veg.(3,3g)	5	43,4	0,3	0,5	0,5	0,3
R8	Carvão Veg.(3,3g)	5	43,9	0,3	-	0,5	0,3
R9	Espuma Pol.(0,26g)	5	44,4	0,3	-	-	0,3
R10	Carvão Veg.(3,3g)	5	44,4	0,3	-	-	0,3
R11*	Suspensão	5	43,9	0,3	0,5	-	0,3
R12*	Suspensão	5	43,9	0,3	-	0,5	0,3

Obs: *os reatores 11 e 12 foram utilizados somente no ensaio com esgotamento da matéria orgânica.

Nos dois ensaios avaliou-se a melhor condição nutricional, testando-se formiato de sódio (680 mg/L) como co-substrato e etanol (46 g/L) como solvente.

4.6. Material Suporte

Diferentes formas de meios suportes para adesão da comunidade microbiana, proveniente do lodo granulado de reator UASB previamente batido em liquidificador, foram avaliadas, tais como, espuma de poliuretano em cubos com 5mm de aresta, densidade de

0,023g/cm³ e área superficial de 43,8m²/g, e carvão vegetal de densidade 0,29g/cm³ e área superficial de 3,5m²/g (valor obtido pelo laudo CCDM – UFSCar – Certificado de ensaio AMP05 – 000129), além de testes com biomassa em suspensão. Foram adicionados 3,3g de carvão vegetal em cada reator e 0,26g de espuma de poliuretano, obtendo-se assim área superficial de 11,5 m² nos reatores. Cada configuração foi executada em triplicata (Figura 4).

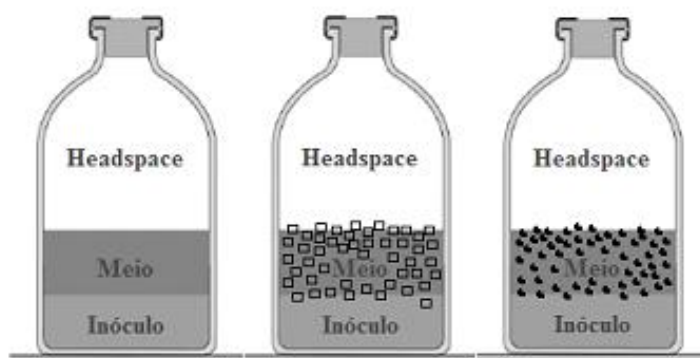


Figura 4. Configuração dos reatores anaeróbios em batelada com biomassa em suspensão, espuma de poliuretano e carvão vegetal

4.7. Análise de Metano

A avaliação da degradação foi feita através de quantificação indireta por meio da análise de metano. Para esta medição, utilizou-se cromatógrafo gasoso Gow Mac – Series 150, equipado com detector de condutividade térmica e coluna de aço inox Porapak Q, de 1/8' X 2m, com temperatura do injetor igual à temperatura da coluna de 50 °C e temperatura do detector de 80°C. A análise procedeu-se com a retirada de 1mL do gás presente no “headspace” dos reatores, com seringa apropriada, a cada duas horas no primeiro dia, a cada

três horas no segundo dia, três vezes por dia na primeira semana e uma vez ao dia na segunda semana. As áreas de cada elemento gasoso representadas nos relatórios foram utilizadas para estimar a proporção de cada gás no volume da amostra. Os valores convertidos das áreas de metano a mmols de CH₄ foram obtidos por meio da equação da reta calibração, nas condições de temperatura e pressão de trabalho. Para obter os valores de metano no “headspace”, foi feita a seguinte proporção em relação ao volume de medição:

$$\text{N}^{\circ} \text{ de mols de CH}_4 \text{ no headspace} = \frac{[\text{CH}_4] \text{ amostra} \times \text{Volume do headspace}}{\text{Volume injetado da amostra}}$$

Sendo:

N^o de mols de CH₄ no headspace em mmol;

[CH₄] amostra em mmol;

Volume do headspace em mL; e

Volume injetado de amostra em mL;

Os resultados obtidos da produção de metano, conjuntamente com os valores de Sólidos Totais Voláteis (STV) dos reatores sem ascarel com diferentes meios suportes e co-substratos, foram utilizados para calcular o potencial metanogênico. Na análise de STV não foram utilizados os reatores que continham o óleo em questão, pelo risco de liberação de dioxinas a temperaturas acima de 300°C. Para obter os valores de STV foi utilizada a metodologia descrita por APHA (2005).

4.8. Caracterização da diversidade microbiana

As amostras dos reatores que continham Ascarel do ensaio com esgotamento da matéria orgânica foram observadas em lâmina contendo ágar 2% e recobertas por lamínula. As análises microscópicas foram realizadas com aumento de 2000 vezes e filtro azul em microscópio Olympus BX60, de contraste de fase e fluorescência, com câmera de captura de imagem acoplada e software Image Pro Plus.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Potencial metanogênico

5.1.1. Comparação da fase log nos dois ensaios

Dos ensaios que foram realizados neste trabalho, o primeiro foi executado sem o período de esgotamento da matéria orgânica e o segundo, com esgotamento da matéria orgânica, como prescrito por Angelidaki (2009). Cada reator foi confeccionado em triplicata, e os valores médios da produção de metano dos reatores do primeiro ensaio e do segundo ensaio foram expressos, em mmol de CH₄/gSTV (Figuras 5 e 6).

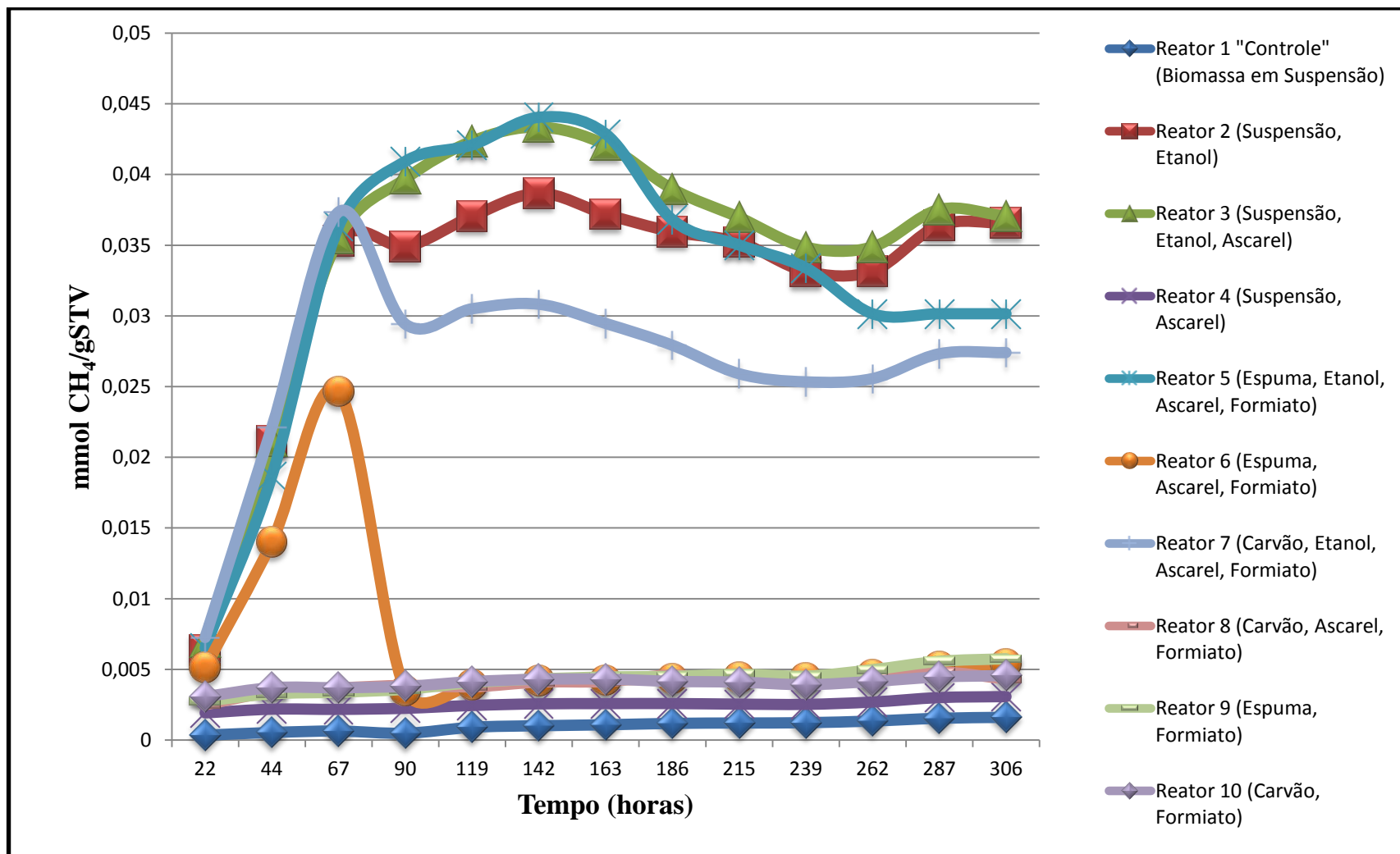


Figura 5. Produção de metano no ensaio sem esgotamento da matéria orgânica

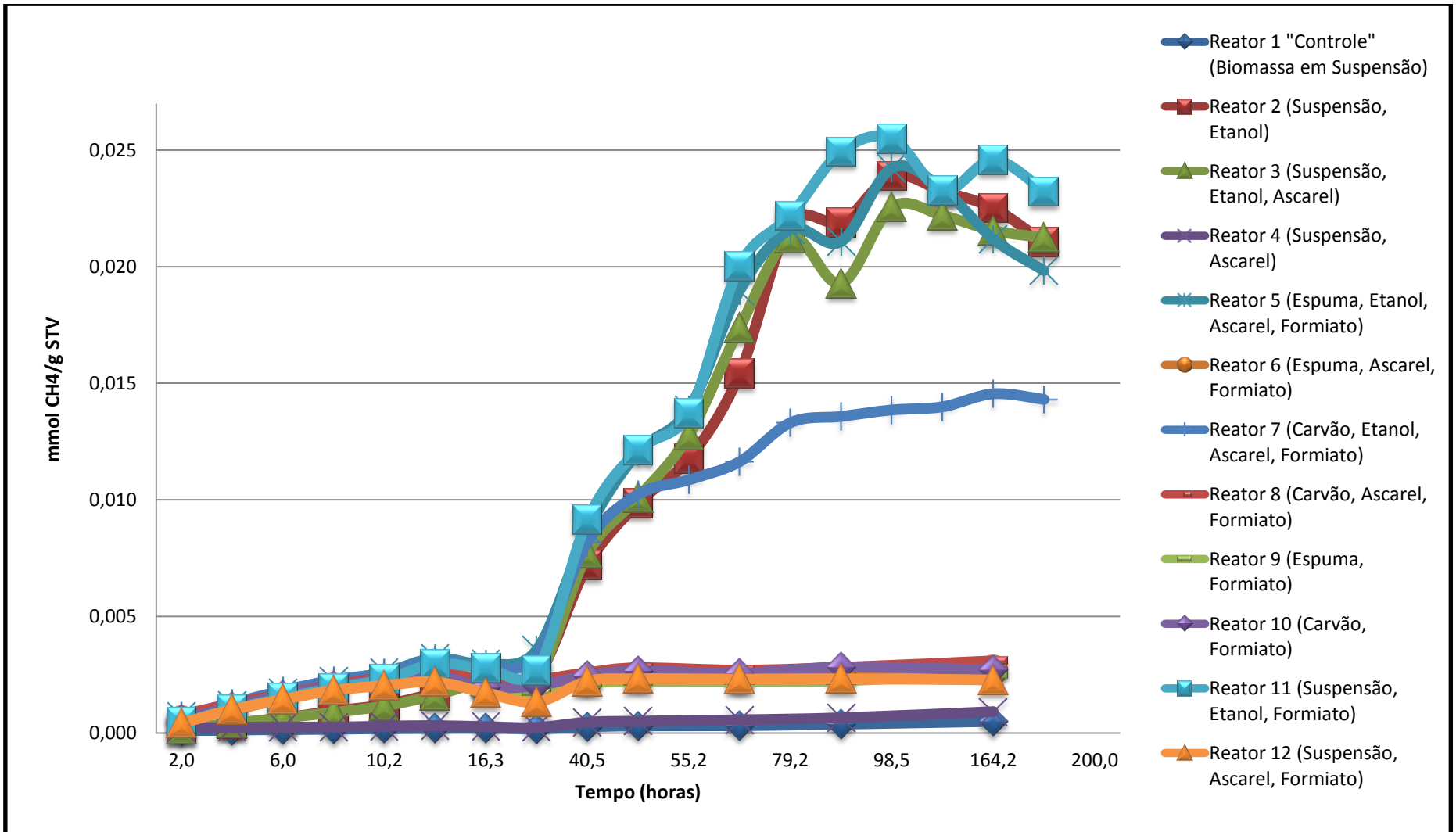


Figura 6. Produção de metano no ensaio com esgotamento da matéria orgânica

Através da observação dos gráficos obtidos nos resultados dos dois ensaios, foi possível constatar perfil similar de produção de metano nos dois ensaios; excetuando os reatores 11 e 12 que não foram operados no primeiro ensaio (sem esgotamento da matéria orgânica). Contudo, diferenças no final da fase *log* dos reatores que continham etanol puderam ser observadas. Diferenças estas, atribuídas à matéria orgânica presente no lodo do primeiro ensaio.

No ensaio sem esgotamento da matéria orgânica, a fase *log* terminou por volta de 67 horas. A produção de metano no Reator 2 (Suspensão, Etanol) foi de 0,0353 mmolCH₄/gSTV. No Reator 3 (Suspensão, Etanol, Ascarel) e Reator 5 (Espuma, Etanol, Ascarel, Formiato) e Reator 7 (Carvão, Etanol, Ascarel, Formiato) a produção de metano foram de 0,0355 mmolCH₄/gSTV; 0,0363 mmolCH₄/gSTV e 0,0374 mmolCH₄/gSTV. Portanto, nessas condições experimentais a produção de metano foi devido a formação de acetato da degradação do etanol. A produção foi similar nos reatores com espuma e células planctônicas. Além disso, verificou-se que o ascarel não favoreceu indiretamente a produção de metano.

No ensaio com esgotamento da matéria orgânica a fase *log* terminou por volta de 80 horas. A produção de metano no Reator 2 (Suspensão, Etanol), nesta hora, foi de 0,0219 mmolCH₄/gSTV. No caso do Reator 3 (Suspensão, Etanol, Ascarel), Reator 5 (Espuma, Etanol, Ascarel, Formiato), Reator 7 (Carvão, Etanol, Ascarel, Formiato) e R11 (Suspensão, Etanol, Formiato) a produção de metano foram de 0,0212 mmolCH₄/gSTV, 0,0216 mmolCH₄/gSTV e 0,0133 mmolCH₄/gSTV e 0,0222 mmolCH₄/gSTV, respectivamente.

Os dois ensaios apresentaram tendências de produção similares, diferindo principalmente no valor absoluto de produção de metano. De acordo com Corrêa (2011), nos casos em que apenas o monitoramento da tendência da produção de metano seja feito o esgotamento da matéria orgânica não será necessário. Contudo, nos casos em que os valores

de produção sejam requeridos, o esgotamento se faz necessário para não induzir a erros nas medições.

5.1.2. Produções máximas de metano

Nos ensaios com e sem esgotamento da matéria orgânica, lodo de reator UASB aplicado em tratamento de água residuária de abatedouro de aves foi utilizado, já que possui boas características de degradação de compostos tóxicos, segundo Gusmão (2000).

Testou-se meios suportes para adesão da biomassa e adsorção do Ascarel, além de solvente para solubilizá-lo, devido às bifenilas policloradas possuírem facilidade em serem adsorvidas (HUTZINGER et al., 1974) e o Ascarel possuir baixa biodisponibilidade e hidrofobicidade, necessitando de um solvente para viabilizar a degradação (BILLINGSLEY; BACKUS; WARD, 1999). Alguns estudos realizados mostram o aumento da eficiência de degradação e produção de metano quando estas duas condições são contempladas nos ensaios. Fava (1996) utilizou Triton X-100 para solubilizar o óleo e pérolas de vidro para adsorvê-lo, com aumento da porcentagem de descloração de 64% e 16%, respectivamente. Corrêa (2011) também utilizou Triton X-100, associado ao etanol e formiato, para solubilizar o Ascarel e materiais suportes como espuma de poliuretano e carvão vegetal para adsorver o óleo e aumentar o contato entre o substrato e a comunidade microbiana, atingindo taxas de remoção iguais a X. Foi adicionado também o co-substrato Formiato, requerido nos casos de mineralização do PCB (BORJA et al. 2005).

Os valores do Pico de Produção Máxima de Metano ($\text{mmolCH}_4/\text{gSTV}$) e o Tempo decorrido (horas) dos ensaios sem esgotamento e com esgotamento da matéria orgânica, estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8. Produções máximas de metano e tempo decorrido dos ensaios sem esgotamento e com esgotamento da matéria orgânica

	Produção Máxima ($\text{mmolCH}_4/\text{gSTV}$)	Tempo decorrido (horas)	Produção Máxima ($\text{mmolCH}_4/\text{gSTV}$)	Tempo decorrido (horas)
R1: Suspensão, Controle	0,0016	306	0,0005	164,2
R2: Suspensão, Etanol	0,0387	142	0,0239	98,5
R3: Suspensão, Etanol, Ascarel	0,0433	142	0,0226	98,5
R4: Suspensão, Ascarel	0,0031	306	0,0009	164,2
R5: Espuma de Poliuretano, Etanol, Ascarel, Formiato	0,044	142	0,0242	98,5
R6: Espuma de Poliuretano, Ascarel, Formiato	0,0247	67	0,0027	164,2
R7: Carvão Vegetal, Etanol, Ascarel, Formiato	0,0374	67	0,0146	164,2
R8: Carvão Vegetal, Ascarel, Formiato	0,0048	287	0,0031	164,2
R9: Espuma de Poliuretano, Formiato	0,0057	306	0,0025	164,2
R10: Carvão Vegetal, Formiato	0,0046	306	0,0028	92,1
R11: Suspensão, Etanol, Formiato	-	-	0,0255	98,5
R12: Suspensão, Ascarel, Formiato	-	-	0,0023	92,1

Para a condição do Reator 1 (Suspensão, Controle), composto por meio Angelidaki e sulfeto de sódio, obteve-se produção máxima de 0,0016 mmolCH₄/gSTV no ensaio sem esgotamento da matéria orgânica e 0,0005 mmolCH₄/gSTV para o ensaio com esgotamento da matéria orgânica. Estes resultados foram devidos ao fato desta condição não possuir nenhuma fonte de carbono para a comunidade microbiana.

A condição do Reator 2 (Suspensão, Etanol) atingiu os picos de 0,0387 mmolCH₄/gSTV no ensaio sem esgotamento e 0,0239 mmolCH₄/gSTV no ensaio com esgotamento. A produção de metano desta condição foi devida à presença do etanol, que foi convertido a acetato e utilizado pelas arqueias metanogênicas para produção de metano (MADIGAN,1997 apud SARTI, 2007).

Para a condição do Reator 3 (Suspensão, Etanol, Ascarel) foi observado o pico de 0,0433 mmolCH₄/gSTV no primeiro ensaio e 0,0226 mmolCH₄/gSTV no segundo ensaio. Provavelmente, ocorreu utilização de etanol pelas bactérias anaeróbias e, conseqüente, produção de metano via arqueias acetoclásticas, mesmo na presença do óleo tóxico no meio reacional. O etanol também age como solvente do Ascarel (LI; ANDREN, 1994), facilitando a biodisponibilidade do óleo para a comunidade microbiana.

Para a condição imposta no Reator 4 (Suspensão, Ascarel) foi observado o pico de 0,0031 mmolCH₄/gSTV no ensaio sem esgotamento e 0,0009 mmolCH₄/gSTV no ensaio com esgotamento da matéria orgânica. Essa baixa produção foi devido a presente somente de Ascarel como fonte de carbono, composto hidrofóbico que necessita de um solvente para tornar-se disponível à comunidade microbiana (PENTEADO,2001; LI; ANDREN, 1994). Desta maneira, o tóxico não foi metabolizado pelas bactérias em compostos mais simples (ácido acético, ácido fórmico, H₂/CO₂), conseqüentemente, sem produção de metano.

Nos ensaios sem esgotamento e com o esgotamento da matéria orgânica, a condição do Reator 5 (Espuma, Etanol, Ascarel, Formiato) apresentou produções máximas de metano

de 0,0440 mmolCH₄/gSTV e 0,0242 mmolCH₄/gSTV respectivamente. O Ascarel presente nestes reatores não afetou a produção de metano proveniente do consumo de etanol, principal responsável pela geração do gás. As altas produções foram devidas à presença do etanol, solvente do óleo e fonte de carbono facilmente degradável. Segundo Aquino (2007) cerca de 70% da produção de metano deriva do consumo de acetato pelas arqueias metanogênica. A parte complementar da produção de metano provém de outras fontes de carbono, como o formiato, que pode ser convertido a metano pelas arqueias hidrogenotróficas (VICH, 2006). O meio suporte também influenciou positivamente a produção de metano. A espuma de poliuretano possui características adsorventes em relação ao Ascarel, aumentando o tempo de contato entre a biomassa e o óleo, além possuir alta área superficial, facilitando a formação do biofilme (MONTONE; WEBER, 1991; NA et al., 2000).

Para a condição imposta ao Reator 6 (Espuma, Ascarel, Formiato) foi observada produção máxima de 0,0247 mmolCH₄/gSTV no ensaio sem esgotamento da matéria orgânica. Todavia, a média de produção de metano ao longo do ensaio foi de 0,0068 mmolCH₄/gSTV. Este salto de produção de metano pode ter ocorrido devido à presença da matéria orgânica proveniente do lodo utilizado. Aquino (2007) e Angelidaki (2009), em suas propostas de protocolo para ensaios de potenciais metanogênicos, sugerem uma etapa prévia de esgotamento da matéria orgânica. Evitando assim, que os compostos provenientes da matéria orgânica presente no lodo levem a erros grosseiros na medição de metano, influenciando negativamente o resultado. Na condição do Reator 6 do ensaio sem esgotamento, a comunidade microbiana consumiu os compostos provenientes do lodo, levando ao decaimento da concentração das fontes facilmente degradáveis, tornando o formiato e Ascarel as únicas fontes disponíveis. Estes dois compostos juntos não foram capazes de suprir a necessidade nutricional da comunidade microbiana, culminando na diminuição da produção de metano. Além disso, o formiato não possui as características

solventes do etanol, sendo assim, a biodisponibilidade do óleo foi comprometida. Quando o esgotamento da matéria orgânica foi realizado previamente no segundo ensaio, a condição do Reator 6 apresentou baixa produção de metano, com pico máximo de 0,0027 mmolCH₄/gSTV. Em comparação com o Reator 9 do ensaio com esgotamento da matéria orgânica, constatou-se que a maior parte da produção de metano foi devida ao consumo de formiato, que possui menor participação na produção de metano em ensaios anaeróbios, produzindo apenas 30% de gás CH₄ total em comparação com a produção proveniente da via acetoclástica (AQUINO, 2007).

Para a condição do Reator 9 (Espuma de poliuretano, formiato) no ensaio sem esgotamento, foi observado o pico de 0,0057 mmolCH₄/gSTV. NA condição do ensaio com esgotamento, o Reator 9 alcançou o pico de 0,0025 mmolCH₄/gSTV. Embora a biomassa usada como inóculo fosse predominantemente metanogênica, a presença de formiato pouco favoreceu a produção de metano.

No ensaio sem esgotamento, a condição do Reator 7 (Carvão, Etanol, Ascarel, Formiato) atingiu o pico de 0,0374 mmolCH₄/gSTV. Já a produção máxima da mesma condição no segundo ensaio foi de 0,0146 mmolCH₄/gSTV. Assim como no Reator 5, as produções obtidas nessa condição foram satisfatórias devido a presença do etanol, atuando como fonte de carbono e solvente, e do meio suporte carvão vegetal, que adsorveu o óleo e permitiu a formação do biofilme. Contudo, a produção foi menor em comparação com as condições que continham o óleo e o solvente juntos (Reator 3 e Reator 5).

Para o Reator 8 (Carvão, Ascarel, Formiato) foi observada produção máxima de metano de 0,0048 mmolCH₄/gSTV no primeiro ensaio e 0,0031 mmolCH₄/gSTV no segundo ensaio. Assim como no reator 6, as fontes de carbono Ascarel e Formiato não foram adequadas às necessidades nutricionais da comunidade microbiana.

Em relação ao Reator 10 (Carvão, Formiato) foi observado 0,0046 mmolCH₄/gSTV no ensaio sem esgotamento e 0,0028 mmolCH₄/gSTV no ensaio com esgotamento da matéria orgânica. Da mesma forma que para a condição do reator 9 (Espuma de poliuretano, formiato) a produção de metano não foi favorecida na presença de formiato, que possui rota de degradação mais curta e menor, em relação à rota acetoclástica.

Para o Reator 11 (Suspensão, Etanol, Formiato) foi observado o maior pico de produção de metano (0,0255 mmolCH₄/gSTV) do ensaio com esgotamento da matéria orgânica. Este resultado foi devido ao fato de as fontes de carbono adicionadas ao meio reacional favorecerem a produção de metano pelas principais vias metabólicas das arqueias metanogênicas, acetoclástica e hidrogenotrófica, beneficiando assim a produção de metano por número de micro-organismos no reator (Aquino, 2007).

Para a condição do Reator 12 (Suspensão, Ascarel, Formiato) foi observada 0,0023 mmolCH₄.gSTV⁻¹. Essa baixa produção de metano foi devido à inexistência de suporte de imobilização da biomassa para adsorver o Ascarel, diminuindo assim o tempo de contato entre o substrato e o co-substrato com os micro-organismos, e por conter apenas Ascarel e Formiato, que nos dois ensaios pouco favoreceram a produção de metano.

5.1.3. Considerações finais

De maneira geral, os valores obtidos para os reatores com biomassa planctônica, imobilizada em espuma de poliuretano e imobilizada em carvão vegetal foram menores para os ensaios com esgotamento da matéria orgânica do que em relação aqueles sem esgotamento da matéria orgânica. Provavelmente, a diversidade de outros compostos orgânicos

provenientes do inóculo favoreceu a produção de metano (AQUINO, 2007; ANGELIDAKI et al., 2009).

O desempenho dos reatores nos dois ensaios indicou que a produção de metano foi maior via metanogênese acetoclástica. O etanol agiu durante os ensaios como solvente do óleo e fonte de carbono para a comunidade microbiana. Em contrapartida, a presença do formiato não foi considerada crucial para a produção de metano, levando à reduzida produção de metano pela via hidrogenotrófica, como descrito por Aquino (2007).

O Ascarel, presente nos reatores que continham etanol, não inibiu a produção de metano, mostrando que a concentração utilizada não foi prejudicial à comunidade microbiana.

A espuma de poliuretano possui grande área superficial, o que aumentou a área de formação do biofilme, e a capacidade de adsorver Ascarel, aumentando o tempo de contato entre a biomassa e o substrato. Nos reatores em que estava presente, a produção de metano foi favorecida. Sendo assim, este meio suporte foi eleito o mais adequado para imobilização da biomassa.

Os reatores em que a biomassa estava suspensa apresentaram bons resultados em ambos os ensaios, indicando que mesmo sem meio suporte para adsorver o óleo, há a possibilidade de se alcançar boas taxas de produção de metano. O desempenho superior destes reatores foi devido à agitação contínua e presença do solvente, etanol.

A produção de metano nos reatores em que o Carvão Vegetal foi menor nos reatores que continham etanol, em ambos os ensaios, em relação à espuma de poliuretano e à biomassa em suspensão,. Entretanto, sem o álcool no meio reacional dos reatores a produção de metano foi semelhante as demais formas de imobilização da biomassa.

Dentre as possibilidades estudadas, a que possuiu em seu meio reacional os elementos que favoreceram a produção de metano foi a configuração do Reator 5 (Espuma de Poliuretano, Etanol, Ascarel, Formiato), sendo esta eleita a melhor condição.

5.2. Análise da comunidade microbiana

5.2.1. Exames microscópicos

Os reatores do ensaio com esgotamento da matéria orgânica foram utilizados para a extração do biofilme e caracterização da comunidade microbiana. De acordo com Aquino (2007), o lodo anaeróbico utilizado para inocular os reatores e as fontes de carbono etanol e formiato levariam à produções de metano através de duas vias: acetoclástica, que necessita do acetato como fonte de carbono, que provém da oxidação do etanol (CORRÊA, 2011); e hidrogenotrófica, que necessita de CO_2/H_2 , tendo o formiato como redutor e fonte de CO_2 (VICH, 2006).

Os exames microscópicos expuseram, principalmente nos reatores com as maiores produções de metano, a presença de morfologias semelhantes a *Methanosaeta*, gênero que utiliza somente acetato como fonte de carbono (BERGEYS, 2001), *Methanosarcina*, gênero que pode usar metanol, acetato, H_2/CO_2 e metilaminas como fonte de carbono (BERGEYS, 2001), e bacilos fluorescentes, que utilizam CO_2/H_2 como fonte de carbono (VICH, 2006) (Figuras Figura 7, Figura 8, Figura 9 e Figura 10).



Figura 7. Bacilos fluorescentes observados em microscópio óptico (2000x)

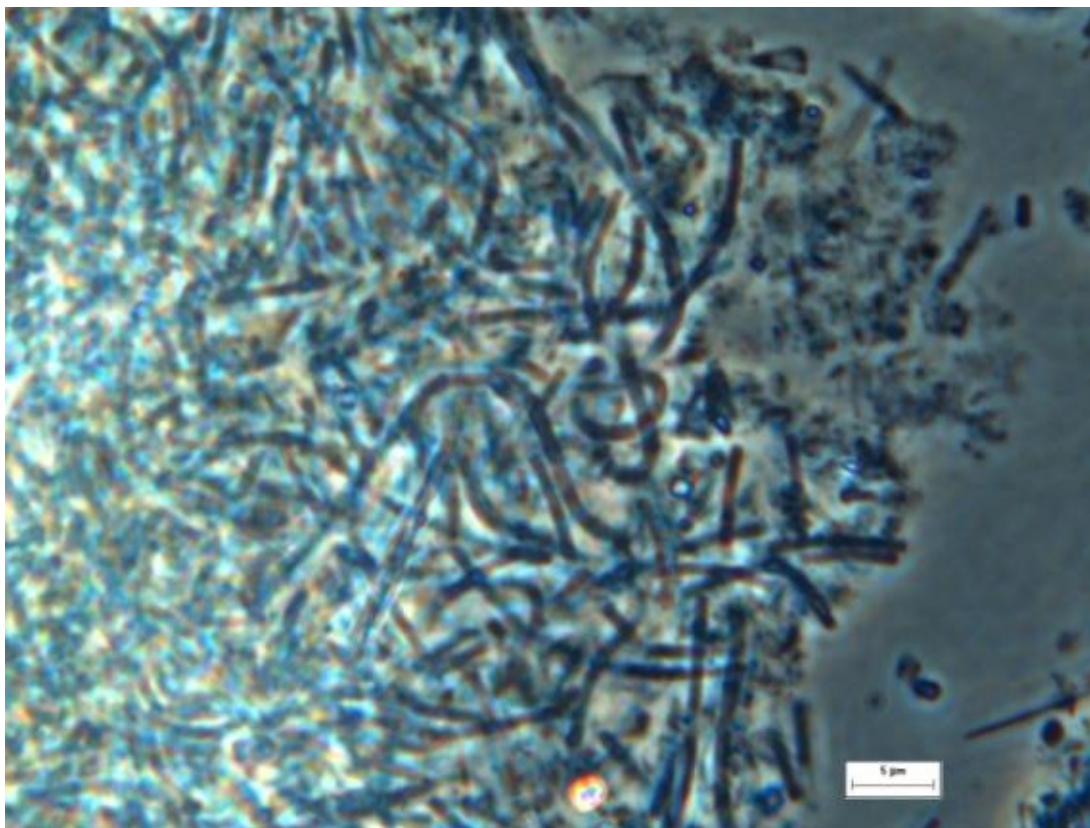


Figura 8. *Methanosaeta* em contraste de fase observada em microscópio óptico (2000x)

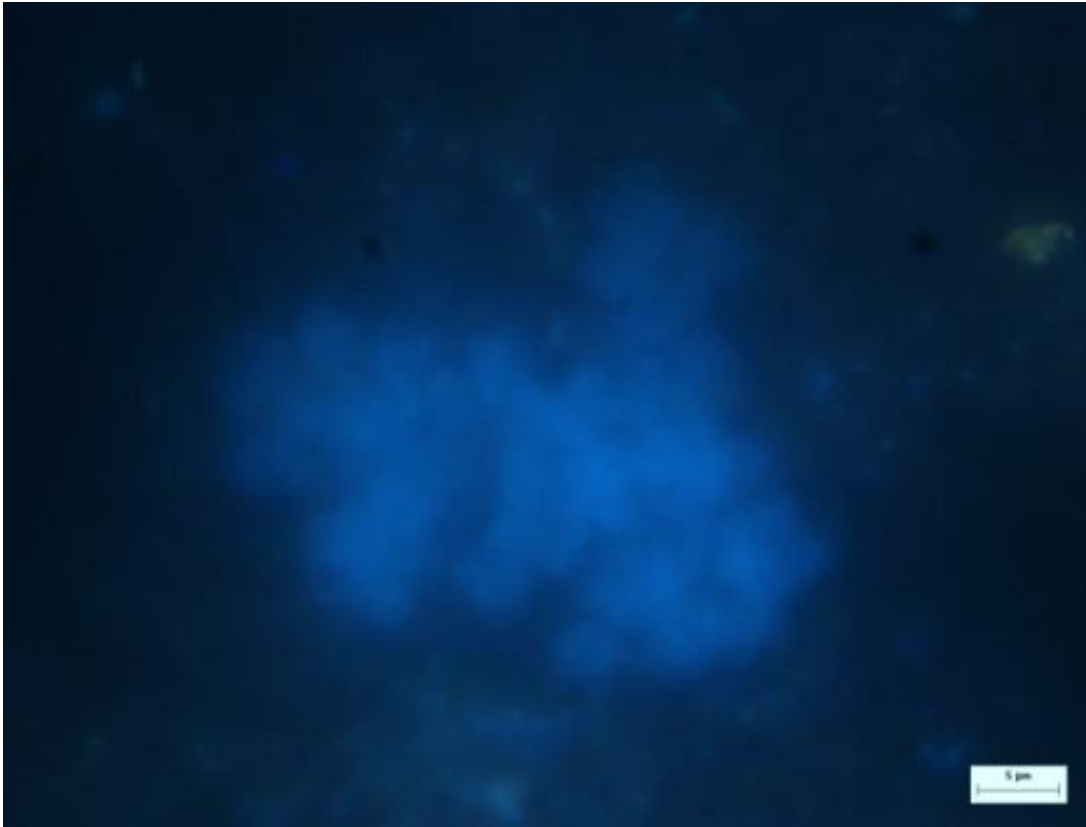


Figura 9. *Methanosarcina* em fluorescência observada em microscópio óptico (2000x)

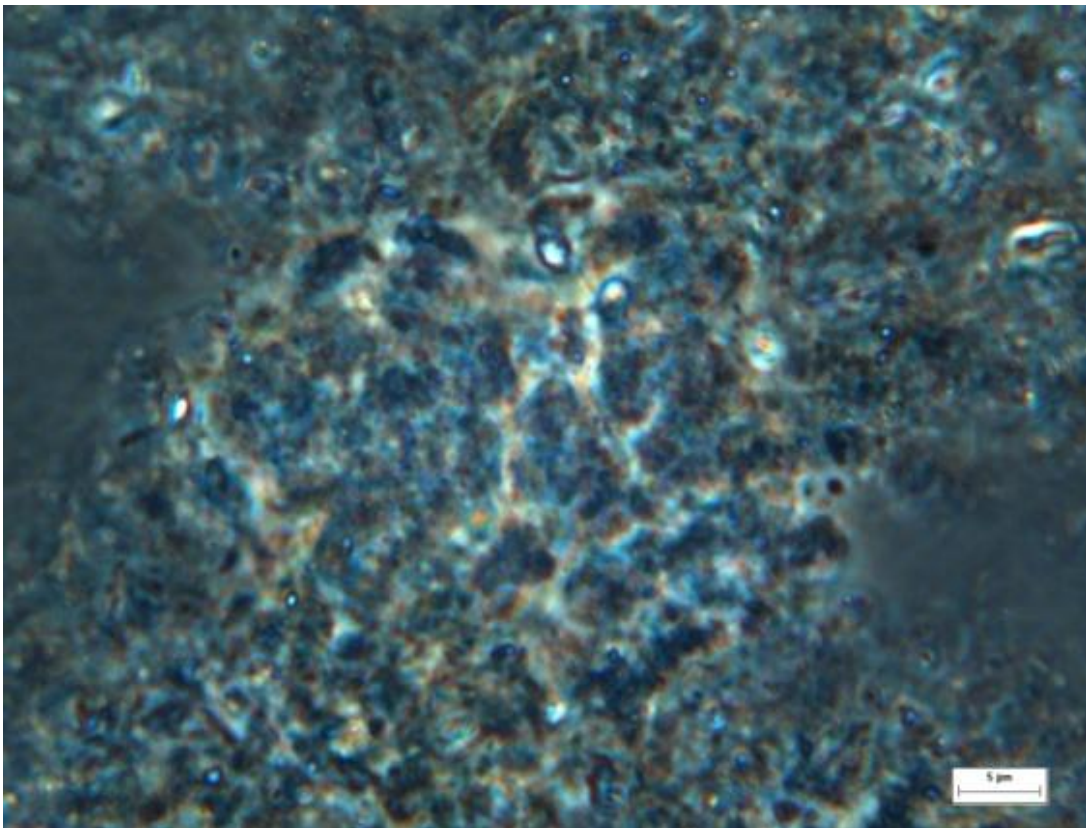


Figura 10. *Methanosarcina* em contraste de fase observada em microscópio óptico (2000x)

6. CONCLUSÕES

A produção de metano não foi afetada pela presença de ascarel; a concentração não foi tóxica o suficiente para inibir o crescimento da comunidade microbiana.

Foi verificado que a adição de outras fontes de carbono aumentou consideravelmente a atividade microbiana do reator. Além disso, observou-se a necessidade da adição de um solvente para solubilizar o óleo e disponibilizá-lo à comunidade microbiana.

A espuma de poliuretano foi a mais adequada por ter área superficial elevada, o que permitiu o desenvolvimento de biofilme.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMOWICZ, D.A. Aerobic and Anaerobic PCB Biodegradation of PCB: A Review. *Critical Review Biotechnology* 10: 241-251, 1990.
- 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 April 1993 in Research Triangle Park, North Carolina.*
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). Toxicological profile for polychlorinated biphenyls (PCBs); Atlanta, GA/U.S.Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2000.
- ANGELIDAKI, I.; ALVES, M.; BOLZONELLA, D.; BORZACCONI, L.; CAMPOS, J. L.; GUWY, A. J.; KALYUZHNYI, S.; JENICEK, P.; VAN LIER, J. B.; Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science & Technology*—WST | 59.5 | 2009.
- 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.
- ANGELIDAKI, I.; SANDER, W., Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants, *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 3: 117–129, 2004.

AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L.; FORESTI, E.; SANTOS, M. L. F.; MONTEGGIA, L. O.; Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Engenharia Sanitária Ambiental* – Volume 12 | Nº2 | 192-201, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 8371: Ascarel para Transformadores e Capacitores – Características e riscos - Elaboração. Rio de Janeiro: ABNT 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 13882: Líquidos isolantes elétricos – Determinação do teor de bifenilas policloradas (PCB). Rio de Janeiro: ABNT 2005

BARBALACE, R.C. The Chemistry of Polychlorinated Biphenyls. EnvironmentalChemistry.com. Set.2003.
<http://EnvironmentalChemistry.com/yogi/chemistry/pcb.html>

BEDARD, D.L.; VAN DORT, H.M.; MAY, R.J.; SMULLEN, L.A. Enrichment of microorganisms that sequentially meta, para-dechlorinate the residue of Aroclor 1260 in Housatonic River sediment. *Environmental Science and Technology* 31, 3308–3313, 1997.

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

BRASIL. MI/MIC/MME. Portaria Interministerial nº019, de 29 de janeiro de 1981. Dispõe sobre fabricação e uso de Ascarel.

BRASIL. Portaria Minter 157, de 26 de outubro de 1982. Dispõe sobre o lançamento de efluentes líquidos contendo substâncias não-degradáveis de alto grau de toxicidade, decorrentes de quaisquer atividades industriais, obedecerá, para salvaguarda da saúde,

segurança e bem-estar das populações que utilizam as águas do rio Paraíba do Sul como manancial de abastecimento.

BRASIL. Resolução CONAMA N° 313, de 29 de outubro de 2002. Dispõe sobre fabricação e uso de Ascarel.

BRASIL. Projeto de Lei 01075/2011. Dispõe sobre a eliminação controlada das Bifenilas Policloradas - PCBs e dos seus resíduos, a descontaminação e a eliminação de transformadores, capacitores e demais equipamentos elétricos que contenham PCBs, e dá outras providências correlatas.

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

CHAVES, M. Crescimento e Sobrevivência do recombinante Rhodococcus SP isolado RHA1 (fcb) em turfa comercial e solo contaminado com PCB. *Dissertação de Mestrado* - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba, 2005.

CHEN, M.; HONG, C.S.; BUSH, B.; RHEE, G-Y. Anaerobic Biodegradation of Polychlorinated Biphenyls by Bacteria from Hudson River Sediments. *Ecotoxicology and Environmental safety* 16, 95 – 105, 1988.

COMMITTEE ON REMEDIATION OF PCB – CONTAMINATED SEDIMENTS, BOARD ON ENVIRONMENTAL STUDIES AND TOXICOLOGY, National Research Council (NRC). A Risk Management Strategy for PCB-Contaminated Sediment. 452 p; *The National Academies Press* 2001, 2001.
http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=10041&page=1

CORRÊA, R.C. Degradação de Bifenila Policlorada e Caracterização da Comunidade Microbiana de Reator Anaeróbico com Biofilme. *Tese de Doutorado*, EESC, USP, São Carlos, 2011.

- CUTTER, L.A.; WATTS, J.E.M.; SOWERS, K.R.; MAY, H.D. Identification of a microorganism that links its growth to the reductive dechlorination of 2,3,5,6-chlorobiphenyl; *Environmental Microbiology* 3, 699–709, 2001.
- FAGERVOLD, S. K.; WATTS, J. E. M.; MAY, H. D.; SOWERS, K. R. Sequential Reductive Dechlorination of meta-Chlorinated Polychlorinated Biphenyl Congeners in Sediment Microcosms by Two Different Chloroflexi Phylotypes. *Applied and Environmental Microbiology* 71,8085-8090, 2005.
- FAVA, F. The presence of glass beads or Triton X-100 in the medium enhances the aerobic dechlorination of Aroclor 1221 in *Pseudomonas* sp CPE1 culture. *Chemosphere*, 32(8): 1469-1475, 1996.
- GARRIT, G.M.; BOONE, D.R.; CASTENHOLZ, R.W. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition, 2001.
- HUTZINGER, O.; SAFE, S.; Zitko, V. *The Chemistry of PCBs*. CRC Press, New York, 1974.
- KINNER, L.L.; MANAHAN, S.E.; LARSEN, D.W. Gasification of waste-contaminated soil by the ChemChar process; *Journal of Environmental Science and Health A28*, 697–727, 1993.
- LEIGH, M. B.; PELLIZARI, V. H.; UHLIK, O.; SUTKA, R.; RODRIGUES, J.; OSTROM, N. E.; ZHOU, J.; TIEDJE, J. M. Biphenyl-utilizing bacteria and their functional genes in a pine root zone contaminated with polychlorinated biphenyls (PCBs). *The ISME Journal* 1, 134–148, 2007.
- LI, A.; ANDREN, A. W. Solubility of Polychlorinated Biphenyls in Water/Alcohol Mixtures 1. Experimental Data; *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 28, N° 1, 47-52, 1994.
- MOHN, W.W.; TIEDJE, J.M. Microbial reductive dechlorination. *Microbiological Reviews* 56, 482–507, 1992.

- MONTONE, R. C.; WEBER, R. R. Avaliação de adsorventes sólidos para determinação de pesticidas organoclorados e bifenilos policlorados na atmosfera marinha. São Paulo, 1991.
- NA, K.; LEE, Y.; LEE, W.; HUH, Y.; LEE, J.; LEE, J.; KUBO, M.; CHUNG, S. Characterization of PCB-Degrading Bacteria Immobilized in Polyurethane Foam; *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 90-4, 368-373, 2000.
- NATARAJAN, M.R.; WU, W. M.; SANFORD, R.; JAIN, M.K. Degradation of biphenyl by methanogenic microbial consortium. *Biotechnology Letters* **21**, 741 – 745, 1999.
- NIELSEN, H.; BRUNAK, S.; VON HEIJNE, G. Machine learning approaches for the prediction of signal peptides and other protein sorting signals. *Protein Engineering*, **12**, 3–9, 1999.
- OLIVEIRA, L. L. Influência do material suporte na degradação do alquibenzeno linear sulfonado em reator anaeróbio. *Dissertação de Mestrado* – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- PENTEADO, J.C.P.; VAZ, J.M. O legado das Bifenilas Policloradas (PCBs). *Química Nova*, Vol.24, N°. 3, 390-398, 2001.
- RIPLEY, L.E., BOYLE, W.C.; CONVERSE, J.C. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digestion of High-Strength Wastes. *Journal Water Pollution Control Fed.*, 58, 406-411, 1986.
- RYSAVY, J. P.; YAN, T.; NOVAK, P.J. Enrichment of anaerobic polychlorinated biphenyl dechlorinators from sediment with iron as a hydrogen source. *Water Research* **39**, 569-578, 2005.
- 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 equipamentos elétricos que contenham PCBs, e dá providências correlatas. *Diário Oficial do Estado*, São Paulo, 23 fev. 2006.
- SARTI, E. L., Influência do oxigênio no crescimento de arqueias metanogênicas e bactérias redutoras de sulfato em reatores anaeróbios em batelada; *Dissertação de Mestrado*. Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos, 2007.
- STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER, 20th ed. *APHA/AWWA/Water Environment Federation*, Washington, DC, USA, 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.
- 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*. Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos, 1995.
- UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMM (UNEP). Inventory of World-wide PCB Destruction Capacity. First Issue. United Nations Environment Programme Chemicals, December, 1998.
- UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMM (UNEP). Inventory of World-wide PCB Destruction Capacity. Second Issue. United Nations Environment Programme Chemicals, December, 2004.
- UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMM (UNEP). Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. First meeting. *United Nations Environment Programme Chemicals*, May 2001.
- VICH, D. V., Atividade metanogênica e comunidade microbiana envolvidas na degradação da metilamina. *Dissertação de Mestrado*. Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos, 2006.
- WAID, J.F. PCBs and the environment. Boca Raton: CRC Press, 1986. 3v.

- WINCHELL, L.J.; NOVAK, P.J. Enhancing polychlorinated biphenyl dechlorination in fresh water sediment with biostimulation and bioaugmentation. *Chemosphere* 71, 176–182, 2008.
- WOLLIN, E. A.; WOLLIN, M. J.; WOLFE, R.S. Formation of Methane by Bacterial Extracts. *The Journal of Biological Chemistry*. 238, 8, 1963.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Environmental health criteria for PCBs and PCTs: international register of toxic chemicals. Geneva, 1990. Pt. 2.
- WU, Q.; WIEGEL, J. Two anaerobic polychlorinated biphenyldehalogenating enrichments that exhibit different para-dechlorination specificities. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 4826–4832, 1997.
- WU, Q.; SOWERS, K. R.; WATTS, J.E.M.; MAY, H.D. Identification of a Bacterium That Specifically Catalyzes the Reductive Dechlorination of Polychlorinated Biphenyls with Doubly Flanked Chlorines. *Applied and Environmental Microbiology* 68,807–812, 2002.
- YAN, T.; LAPARA T.M.; NOVAK, P.J. *The Impact of Sediment Characteristics on PCB-dechlorinating Cultures: Implications for Bioaugmentation. Bioremediation Journal* 10, 143-151, 2006.
- YANG, S.; YOSHIDA, N.; BABA, D.; KATAYAMA, A. Anaerobic Biodegradation of Biphenyl in various paddy soils and river sediment. *Chemosphere* (2007), doi:10.1016/j.chemosphere.2007.09.002.
- YUAN, S. Y.; SU, C.J.; CHANG, B.V. Microbial Dechlorination of Hexachlorobenzene in Anaerobic Sewage Sludge. *Chemosphere* (1999), Vol. 38, No. 5, pp. 1015-1023.