

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL**

**PAULO IGOR MILEN FIRMINO**

**TRATAMENTO ANAERÓBIO E MICROAERÓBIO DE ÁGUAS SINTÉTICAS**  
**CONTAMINADAS COM BTEX**

**FORTALEZA**

**2013**



PAULO IGOR MILEN FIRMINO

TRATAMENTO ANAERÓBIO E MICROAERÓBIO DE ÁGUAS SINTÉTICAS  
CONTAMINADAS COM BTEX

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Engenharia Civil. Área de concentração: Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. André Bezerra dos Santos.

Co-orientador: Dr. Alexandre Colzi Lopes.

FORTALEZA

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Pós-Graduação em Engenharia - BPGE

- 
- F557t      Firmino, Paulo Igor Milen.  
            Tratamento anaeróbico e microaeróbico de águas sintéticas contaminadas com BTEX / Paulo Igor Milen Firmino. – 2013.  
            168 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Fortaleza, 2013.  
            Área de Concentração: Saneamento Ambiental  
            Orientação: Prof. Dr. André Bezerra dos Santos.  
            Coorientação: Dr. Alexandre Colzi Lopes.
1. Saneamento. 2. Hidrocarbonetos. I. Título.

PAULO IGOR MILEN FIRMINO

TRATAMENTO ANAERÓBIO E MICROAERÓBIO DE ÁGUAS SINTÉTICAS  
CONTAMINADAS COM BTEX

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Engenharia Civil. Área de concentração: Saneamento Ambiental.

Aprovada em: 19/07/2013.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. André Bezerra dos Santos (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Alexandre Colzi Lopes (Co-orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Elisa Rodríguez Rodríguez  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Renato Carrhá Leitão  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)

---

Prof. Dr. Mario Takayuki Kato  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)



À minha família.





## AGRADECIMENTOS

Mais uma importante etapa da minha vida chega ao fim. Por isso, deixo aqui meus sinceros agradecimentos a muitos que contribuíram não apenas para o desenvolvimento e a conclusão deste trabalho, mas também para o meu crescimento pessoal, profissional e espiritual.

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida, pelas graças e bênçãos alcançadas, por ser meu refúgio e minha fortaleza diante das dificuldades, e dar-me fé, confiança e serenidade para superá-las. Senhor, “ainda que eu atravesse o vale escuro, nada temerei, pois estais comigo” (Salmo 22 [23], 4).

Aos meus pais Paulo e Nazira pelo amor incondicional, por não terem medido esforços para garantir a minha educação – a maior herança que deixaram a mim e aos meus irmãos –, por serem exemplos de dedicação, responsabilidade, caráter e fé, e sempre estarem presentes na minha vida como verdadeiros amigos. Obrigado por tudo!

Aos meus queridos irmãos Yuri e Andrei pela grande amizade, pelo apoio, pela compreensão e pelos bons momentos em família. Tenho grande admiração por vocês! Obrigado.

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. André Bezerra dos Santos pela excelente orientação, pela confiança, pelo apoio, pela paciência, pela amizade, e, principalmente, por acreditar no meu potencial. Prof. André, tenho grande estima e respeito pelo senhor! Muito obrigado.

Ao meu co-orientador, colega de projeto e amigo Dr. Alexandre Colzi Lopes pela excelente orientação, pelos conhecimentos compartilhados, pelo incentivo, pela grande ajuda nos experimentos e pela amizade. Alejandro, muito obrigado.

Ao Prof. Dr. Mario Takayuki Kato, ao Dr. Renato Carrhá Leitão e à Dra. Elisa Rodríguez Rodríguez por aceitarem participar de banca examinadora e pelas excelentes sugestões e contribuições para este trabalho.

Às colegas de projeto e amigas Patrícia (Patsy), Raquel (Rachel), Mayara (May) e Amanda. Muito obrigado a todas pela ajuda indispensável nos experimentos, pelos conhecimentos compartilhados e por dividirem as alegrias e angústias obtidas ao longo dessa caminhada. Sem vocês este trabalho não teria sido concluído. Nós conseguimos! Muito obrigado.

Ao meu colega do Labosan (Laboratório de Saneamento) e amigo Daniel pelos conhecimentos compartilhados, pelo incentivo, por estar sempre disposto a ajudar em qualquer momento e pela amizade. Valeu, Mói!

Aos companheiros do Labosan e colegas da pós-graduação em Engenharia Civil do Departamento de Engenharia Hidráulica pelos bons momentos compartilhados.

Aos meus grandes amigos Davi e Maria Di Maria pela amizade, pelo companheirismo, pela compreensão, pelo apoio e pelos conselhos e diversos momentos divertidos. Muito obrigado aos dois!

Aos professores do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental pelo conhecimento transmitido.

À Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de doutorado e pelo apoio financeiro (Processo PNPd 3022/2010).

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) (Processo 481270/2010-8) e à Funcap (Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico) (Processo 078.01.00/09) pelo apoio financeiro.

E, finalmente, obrigado a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para realização deste trabalho.

*“A mente que se abre a uma nova ideia jamais  
voltará ao seu tamanho original.”*

Albert Einstein



## RESUMO

O presente estudo teve o objetivo de avaliar o uso de reatores biológicos, sob condições anaeróbias e microaeróbias, como opção de biorremediação *ex situ* de águas contaminadas com BTEX. Inicialmente, foi desenvolvido, otimizado e validado um método analítico para a detecção e quantificação de BTEX em águas e efluentes, o qual consistia em extração por *headspace* seguida de cromatografia gasosa com detecção por fotoionização. Posteriormente, foram conduzidos experimentos em fluxo contínuo em dois reatores anaeróbios mesofílicos (27 °C) – um deles operado sob condições metanogênicas e, em seguida, sob condições microaeróbias, e o outro, apenas sob condições sulfetogênicas – a fim de verificar a melhor condição operacional para a remoção de BTEX. Os reatores foram alimentados com água contaminada com BTEX (~3 mg·L<sup>-1</sup> de cada composto) e etanol (co-substrato), e, dependendo da condição redox avaliada, investigou-se o efeito de diferentes parâmetros operacionais, tais como tempo de detenção hidráulica (24, 36 e 48 h), recirculação de efluente, concentração de co-substrato, relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> e microaeração, no desempenho de remoção de BTEX. Além disso, o reator metanogênico sob condições microaeróbias foi submetido a simulações de choques de carga e de ausência desses compostos, e de falhas operacionais, como desligamento do sistema e desligamento da microaeração, para verificação de sua robustez. Sob condições metanogênicas, dependendo do composto, as eficiências de remoção variaram de 38 a 97%. Porém, o aumento da carga aplicada de BTEX, em consequência da redução do tempo de detenção hidráulica de 48 para 24 h, parece ter afetado negativamente o processo de remoção. Ainda sob condições metanogênicas, também se verificou o efeito da recirculação de efluente na remoção de BTEX para altas e baixas concentrações de co-substrato (etanol). Quando altas concentrações de etanol foram utilizadas, o impacto da recirculação de efluente não foi evidente, já que, provavelmente, a elevada produção de biogás teria sido suficiente para garantir uma transferência de massa efetiva. Sob condições sulfetogênicas, a adição de sulfato em diversas relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> não alterou a remoção de BTEX, sugerindo que as bactérias redutoras de sulfato não estariam diretamente relacionadas à ativação inicial dos compostos aromáticos. Sob condições microaeróbias, elevadas eficiências de remoção de BTEX foram alcançadas (> 90%). É provável que a adição de baixas concentrações de oxigênio tenha facilitado a ativação inicial dos compostos BTEX, a qual é considerada a etapa limitante do processo de degradação anaeróbia, principalmente para o benzeno. Ainda, constatou-se que a presença de altas concentrações de etanol afetou negativamente a remoção de BTEX, notadamente para o

benzeno, sob as diferentes condições redox testadas, já que é um substrato preferencialmente degradável em relação aos compostos aromáticos. Finalmente, com relação à robustez do reator metanogênico sob condições microaeróbias, o sistema conseguiu lidar com os choques de carga de BTEX embora choques consecutivos tenham aumentado seu tempo de recuperação. O período de ausência de BTEX parece ter prejudicado a microbiota do reator, pois a qualidade do efluente deteriorou-se consideravelmente após reintrodução dos compostos. O desligamento da microaeração impactou negativamente a remoção de BTEX, mas o sistema recuperou-se rapidamente após restabelecimento das condições microaeróbias.

Palavras-chave: BTEX; biorremediação *ex situ*; tratamento anaeróbio; metanogênese; sulfetogênese; tratamento microaeróbio.

## ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the use of biological reactors under anaerobic and microaerobic conditions, as an option of *ex situ* bioremediation of BTEX-contaminated waters. Initially, an analytical method for BTEX detection and quantification in waters and wastewaters, which consisted of headspace extraction followed by gas chromatography with detection by photoionization, was developed, optimized and validated. Subsequently, continuous-flow experiments were conducted in two mesophilic (27 °C) anaerobic reactors – one of them operated under methanogenic conditions and, afterwards, under microaerobic conditions, and the other one only under sulfidogenic conditions – in order to determine the best operational condition for BTEX removal. The reactors were fed with water contaminated with BTEX (~3 mg·L<sup>-1</sup> of each compound) and ethanol (co-substrate), and, depending on the redox condition evaluated, the effect of some operational parameters, such as hydraulic retention time (24, 36 and 48 h), effluent recirculation, co-substrate concentration, DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ratio and microaeration, was investigated in BTEX removal performance. Furthermore, the methanogenic reactor under microaerobic conditions was submitted to simulated situations of shock loading and absence of these compounds, and operational failures, such as system and microaeration shutdown to assess its robustness. Under methanogenic conditions, depending on the compound, removal efficiencies ranged from 38 to 97%. However, the increase of applied BTEX load, as a consequence of hydraulic detention time reduction from 48 to 24 h, seems to have adversely affected the removal process. Moreover, under methanogenic conditions, the effluent recirculation effect on BTEX removal was also assessed when high and low co-substrate (ethanol) concentrations were applied. For high ethanol concentrations, the impact of effluent recirculation was not evident since, probably, the high biogas production would have been sufficient to ensure effective mass transfer. Under sulfidogenic conditions, sulfate addition at different DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ratios did not change BTEX removal, which suggests sulfate-reducing bacteria would not be directly related to initial activation of aromatic compounds. Under microaerobic conditions, high BTEX removal efficiencies were achieved (> 90%). It is likely the addition of low oxygen concentrations has facilitated the initial activation of BTEX compounds, which is considered the limiting step of the anaerobic degradation process, mainly for benzene. Furthermore, the presence of high ethanol concentrations negatively affected BTEX removal, particularly for benzene, under the different redox conditions tested, since it is a preferentially degradable substrate when compared to the aromatic compounds. Finally, regarding the methanogenic reactor robustness

under microaerobic conditions, the system could cope with BTEX load shocks although consecutive shocks have increased its recovery time. The period of BTEX absence seems to have negatively affected the reactor microbiota because the effluent quality deteriorated considerably after compounds reintroduction. The microaeration shutdown also negatively impacted the removal of BTEX, but the system recovered quickly after microaerobic conditions reestablishment.

Keywords: BTEX; bioremediation *ex situ*; anaerobic treatment; methanogenesis; sulfidogenesis; microaerobic treatment.



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>1.1</b>	<b>Objetivos</b> .....	<b>22</b>
<b>1.1.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>22</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>22</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>23</b>
<b>2.1</b>	<b>Hidrocarbonetos monoaromáticos (BTEX)</b> .....	<b>23</b>
<b>2.2</b>	<b>Determinação de BTEX</b> .....	<b>25</b>
<b>2.3</b>	<b>Processos de remoção de BTEX</b> .....	<b>27</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Processos não biológicos</b> .....	<b>28</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Processos biológicos</b> .....	<b>30</b>
<b>2.4</b>	<b>Remoção de BTEX em sistemas anaeróbios operados em fluxo contínuo</b> .....	<b>36</b>
<b>3</b>	<b>OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA DE EXTRAÇÃO POR HEADSPACE PARA DETERMINAÇÃO DE BTEX EM ÁGUAS E EFLUENTES POR CROMATOGRAFIA GASOSA</b> .....	<b>41</b>
<b>3.1</b>	<b>Introdução</b> .....	<b>41</b>
<b>3.2</b>	<b>Material e métodos</b> .....	<b>43</b>
<b>3.2.1</b>	<b>Reagentes e soluções</b> .....	<b>43</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Extração e determinação de BTEX</b> .....	<b>43</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Validação do método HS-GC-PID para determinação de BTEX</b> .....	<b>45</b>
<b>3.3</b>	<b>Resultados e discussão</b> .....	<b>46</b>
<b>3.3.1</b>	<b>Otimização multivariada da extração de BTEX</b> .....	<b>47</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Validação do método HS-GC-PID</b> .....	<b>51</b>
<b>3.4</b>	<b>Conclusões</b> .....	<b>55</b>
<b>4</b>	<b>TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUAS SINTÉTICAS CONTAMINADAS COM BTEX EM REATOR METANOGÊNICO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES OPERACIONAIS</b> .....	<b>57</b>
<b>4.1</b>	<b>Introdução</b> .....	<b>57</b>
<b>4.2</b>	<b>Material e métodos</b> .....	<b>58</b>
<b>4.2.1</b>	<b>Sistema experimental</b> .....	<b>58</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Água contaminada sintética</b> .....	<b>59</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Procedimento experimental</b> .....	<b>60</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Análises químicas e cromatográficas</b> .....	<b>61</b>

4.2.5	Métodos estatísticos .....	61
4.3	Resultados e discussão.....	62
4.3.1	Remoção de DQO e produção de metano.....	62
4.3.2	Remoção de BTEX.....	67
4.4	Conclusões .....	78
5	<b>EFEITO DA RELAÇÃO DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> NO TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUAS SINTÉTICAS CONTAMINADAS COM BTEX EM REATOR SULFETOGENICO .....</b>	<b>79</b>
5.1	Introdução .....	79
5.2	Material e métodos .....	80
5.2.1	Sistema experimental .....	80
5.2.2	Água contaminada sintética.....	81
5.2.3	Procedimento experimental .....	82
5.2.4	Análises químicas e cromatográficas .....	83
5.2.5	Métodos estatísticos .....	83
5.3	Resultados e discussão.....	84
5.3.1	Remoção de DQO, redução de sulfato e produção de metano .....	84
5.3.2	Remoção de BTEX.....	93
5.4	Conclusões .....	102
6	<b>TRATAMENTO DE ÁGUAS SINTÉTICAS CONTAMINADAS COM BTEX EM REATOR SOB CONDIÇÕES ANAERÓBIAS E MICRO-AERÓBIAS .....</b>	<b>103</b>
6.1	Introdução .....	103
6.2	Material e métodos .....	104
6.2.1	Sistema experimental .....	104
6.2.2	Água contaminada sintética.....	106
6.2.3	Procedimento experimental .....	106
6.2.4	Análises químicas e cromatográficas .....	107
6.2.5	Métodos estatísticos .....	108
6.3	Resultados e discussão.....	108
6.3.1	Remoção de DQO e produção de metano.....	108
6.3.2	Remoção de BTEX.....	110
6.4	Conclusões .....	117

<b>7</b>	<b>ROBUSTEZ DE REATOR MICROAERÓBIO DURANTE TRATAMENTO DE ÁGUAS SINTÉTICAS CONTAMINADAS COM BTEX.....</b>	<b>119</b>
<b>7.1</b>	<b>Introdução.....</b>	<b>119</b>
<b>7.2</b>	<b>Material e métodos.....</b>	<b>121</b>
<b>7.2.1</b>	<b>Sistema experimental.....</b>	<b>121</b>
<b>7.2.2</b>	<b>Água contaminada sintética.....</b>	<b>122</b>
<b>7.2.3</b>	<b>Procedimento experimental.....</b>	<b>122</b>
<b>7.2.4</b>	<b>Análises químicas e cromatográficas.....</b>	<b>124</b>
<b>7.3</b>	<b>Resultados e discussão.....</b>	<b>125</b>
<b>7.3.1</b>	<b>Choques de carga de BTEX.....</b>	<b>125</b>
<b>7.3.2</b>	<b>Ausência de BTEX.....</b>	<b>129</b>
<b>7.3.3</b>	<b>Desligamento do sistema de tratamento.....</b>	<b>131</b>
<b>7.3.4</b>	<b>Desligamento da microaeração.....</b>	<b>132</b>
<b>7.4</b>	<b>Conclusões.....</b>	<b>135</b>
<b>8</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>137</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>141</b>
	<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>167</b>



## 1 INTRODUÇÃO

A indústria do petróleo é um dos maiores e mais importantes segmentos industriais do mundo. Entretanto, esse setor também é responsável por consideráveis impactos ambientais causados por vazamentos, derrames e outros acidentes que podem ocorrer durante as atividades de exploração, refinamento, transporte e armazenamento do petróleo e de seus derivados, ocasionando, então, graves consequências para o meio ambiente (CALLADO; SILVA; LOPES, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Dentre os diversos compostos que compõem o petróleo e os seus derivados, estão os hidrocarbonetos monoaromáticos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX), os quais possuem como característica principal a presença do anel benzênico em sua estrutura, o que os torna compostos bastante estáveis, dificultando, assim, sua remoção do meio ambiente (JO *et al.*, 2008a; YANG; JIANG; SHI, 2006).

Portanto, a partir do vazamento acidental de tubulações e tanques de armazenamento subterrâneos de combustíveis fósseis, os BTEX – os quais possuem solubilidade e mobilidade em água relativamente alta – podem contaminar extensivamente solos e aquíferos subterrâneos, comprometendo fontes de água potável (DOU; LIU; HU, 2008; DOU *et al.*, 2008) e representando, assim, um sério problema ambiental e de saúde pública devido à elevada toxicidade e ao potencial carcinogênico desses compostos (FOGHT, 2008; JO *et al.*, 2008a; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010).

Além disso, no Brasil, etanol é adicionado à gasolina (20-25%, em volume) de forma a atenuar as emissões atmosféricas automotivas prejudiciais. Entretanto, isso pode agravar o problema de contaminação de aquíferos subterrâneos, já que o etanol pode exercer um efeito de co-solvência, aumentando a solubilidade em água dos BTEX e, conseqüentemente, resultando em concentrações mais elevadas (CORSEUIL *et al.*, 2011).

Os BTEX se destacam na lista de poluentes prioritários da agência de proteção ambiental norte-americana (USEPA, *United States Environmental Protection Agency*) devido ao seu elevado potencial carcinogênico e mutagênico. Além disso, sua solubilidade em água relativamente alta facilita a rápida contaminação de águas subterrâneas e solos. Mesmo em baixas concentrações, podem trazer sérios danos ao meio ambiente e à saúde humana (AIVALIOTI *et al.*, 2012; JO *et al.*, 2008a; MAZZEO *et al.*, 2010; PAIXÃO *et al.*, 2007).

A exposição humana a tais compostos pode gerar desde danos ao sistema nervoso central até o desenvolvimento de câncer, em especial o benzeno, o qual é reconhecidamente o composto mais tóxico do grupo e classificado pela Organização Mundial de Saúde (OMS)

como potencial agente carcinogênico, podendo causar leucemia e até levar o indivíduo à morte em caso de exposição aguda (ES'HAGHI; EBRAHIMI; HOSSEINI, 2011; SINGH; FULEKAR, 2010). Os demais compostos – tolueno, etilbenzeno e os isômeros do xileno – também são considerados tóxicos, porém nenhum tipo de câncer foi comprovadamente atribuído a eles (FORTE *et al.*, 2007; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010).

Normalmente, os tratamentos físico-químicos convencionais utilizados para a remoção de BTEX do meio ambiente, além de demandarem elevados custos operacionais, não destroem os contaminantes, mas apenas os transferem de fase. Assim, os processos biológicos são considerados como uma tecnologia eficiente na remoção de BTEX de águas contaminadas e efluentes, especialmente por causa da sua simplicidade operacional e baixo custo quando comparado a outros métodos (FARHADIAN *et al.*, 2008; MAZZEO *et al.*, 2010).

A biodegradação aeróbia de hidrocarbonetos aromáticos é possível e tem sido amplamente estudada. O processo aeróbio é mais rápido e bioquimicamente preferencial em relação ao processo anaeróbio, já que requer menor energia de ativação e produz mais energia por reação (BORDEN; GOMEZ; BECKER, 1995; FOGHT, 2008). Por outro lado, avanços significativos foram realizados nos últimos anos no que diz respeito à biodegradação anaeróbia de BTEX. De fato, diversas configurações de reatores anaeróbios, como os reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) (CATTONY *et al.*, 2005; DE NARDI; ZAIAT; FORESTI, 2007), reatores de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB) (MARTÍNEZ; CUERVO-LÓPEZ; GOMEZ, 2007) e reatores híbridos (UASB + filtro anaeróbio) (ENRIGHT; COLLINS; O'FLAHERTY, 2007), têm sido usadas para o tratamento de águas e efluentes contaminados com BTEX. Entretanto, alguns parâmetros operacionais, tais como tempo de detenção hidráulica, concentração afluente de poluentes, carga orgânica volumétrica, recirculação de efluente, tipo de aceptores de elétrons e outros, podem influenciar no desempenho de degradação desses compostos e ainda carecem de investigações adicionais (FARHADIAN *et al.*, 2008).

Por exemplo, a literatura reporta que a recirculação de efluente tem um impacto positivo na capacidade de remoção de fenóis, compostos semelhantes aos BTEX, em termos de aromaticidade, já que, além de melhorar a transferência de massa (contato entre substrato e microbiota), favorece a diluição do afluente no início do reator, mantendo, assim, a concentração de compostos inibitórios dentro de uma faixa adequada (VEERESH; KUMAR; MEHROTRA, 2005). Adicionalmente, diferentes aceptores alternativos de elétrons, tais como nitrato, sulfato, Fe (III), Mn (IV) e perclorato, têm sido utilizados na remediação anaeróbia de águas contaminadas com BTEX (FOGHT, 2008; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS,

2010). Embora a redução de sulfato e a metanogênese ocorram em condições redox similares (FOGHT, 2008; FOWLER *et al.*, 2012), estudos mostram que a degradação anaeróbia de BTEX é estimulada pela adição de sulfato como aceptor alternativo de elétrons, e, conseqüentemente, elevadas eficiências de remoção podem ser alcançadas (ANDERSON; LOVLEY, 2000; CUNNINGHAM *et al.*, 2000; DA SILVA; RUIZ-AGUILAR; ALVAREZ, 2005; PHELPS; YOUNG, 1999).

Outro fator importante é a presença de etanol em águas contaminadas com BTEX a partir de vazamentos de tanques de gasolina. Estudos mostram que esse composto é preferencialmente degradado em relação aos BTEX sob diversas condições redox (aeróbia, desnitrificante, sulfetogênica e metanogênica), dificultando, assim, o seu processo de degradação (CHEN; BARKER; GUI, 2008; CORSEUIL *et al.*, 1998; CORSEUIL *et al.*, 2011; DA SILVA; RUIZ-AGUILAR; ALVAREZ, 2005). Além disso, acetato e hidrogênio – possíveis intermediários da degradação sintrófica de BTEX – podem ser produzidos a partir da digestão anaeróbia de etanol. Logo, a degradação de elevadas concentrações desse co-substrato pode resultar em um acúmulo transiente de acetato e hidrogênio, o que, provavelmente, inibiria a degradação sintrófica de BTEX, já que o processo passaria a ser energeticamente desfavorável (EDWARDS; GRBIĆ-GALIĆ, 1994; RAKOCZY *et al.*, 2011).

Ainda, a adição de baixas concentrações de oxigênio pode favorecer a degradação inicial dos compostos BTEX, pois, sob condições microaeróbias, alguns microrganismos podem utilizar oxigênio para introduzir grupos hidroxila no anel aromático como nas rotas aeróbias clássicas, facilitando posteriormente sua clivagem por meio de rotas metabólicas anaeróbias (FUCHS, 2008). Assim, faz-se necessária a avaliação de processos microaeróbios na degradação de BTEX, principalmente com inóculos anaeróbios operados em condições microaeróbias.

Finalmente, variações de carga afluyente, pH, temperatura e compostos tóxicos e inibitórios podem afetar negativamente o desempenho de reatores (LEITÃO *et al.*, 2006). Segundo Kraakman (2003), um sistema biológico só pode ser implementado com sucesso se for considerado robusto para o seu propósito, ou seja, ser capaz de lidar com flutuações e de recuperar-se após falhas operacionais. Entretanto, Leitão *et al.* (2006) afirmam que a noção de estabilidade ou robustez de reatores anaeróbios ainda não é muito clara. Segundo esses autores, robustez pode ser definida como a capacidade dos sistemas de tratamento de alcançar um desempenho estável sob determinadas condições ambientais e operacionais. Sob essa perspectiva, os sistemas anaeróbios são tão estáveis quanto qualquer outro sistema biológico. Porém, estabilidade também pode ser definida em termos de variabilidade do efluente do

processo, ou seja, a capacidade de um sistema de lidar com variações ambientais e operacionais mais severas (LEITÃO *et al.*, 2006). Assim, a verificação da robustez de um sistema de tratamento é um procedimento essencial, de grande importância para biorremediação *ex situ* de águas contaminadas com BTEX.

## **1.1 Objetivos**

### ***1.1.1 Objetivo geral***

Avaliar o uso de reatores biológicos mesofílicos, sob condições anaeróbias e microaeróbias, como opção de biorremediação *ex situ* de águas contaminadas com BTEX.

### ***1.1.2 Objetivos específicos***

Otimizar e validar método cromatográfico para a detecção e quantificação de compostos BTEX em águas e efluentes (Capítulo 3).

Avaliar o efeito do tempo de detenção hidráulica (TDH), da recirculação de efluente e da redução da concentração de co-substrato (etanol) no desempenho de remoção anaeróbia de BTEX em reator metanogênico (Capítulo 4).

Verificar a influência da relação  $DQO/SO_4^{2-}$  e o impacto da redução da concentração de co-substrato (etanol) no desempenho de remoção anaeróbia de BTEX em reator sulfetogênico (Capítulo 5).

Avaliar e comparar o desempenho de remoção de BTEX em reator biológico submetido a altas e baixas concentrações de co-substrato (etanol) sob condições anaeróbias e microaeróbias (Capítulo 6).

Avaliar o desempenho de remoção de BTEX de reator microaeróbio quando submetido a simulações de choques de carga e de ausência desses hidrocarbonetos aromáticos, e de falhas operacionais, como desligamento do sistema e desligamento da microaeração, para verificação de sua robustez (Capítulo 7).



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Hidrocarbonetos monoaromáticos (BTEX)

Os hidrocarbonetos aromáticos, abundantes em petróleo e seus derivados, entram em contato com o meio ambiente global através de ação antrópica, tais como derramamentos de óleo cru, queima de combustíveis fósseis e vazamentos de gasolina, ou de forma natural, como pela fumaça de incêndios florestais e percolação natural de petróleo. Esses hidrocarbonetos compreendem simples compostos aromáticos – como o benzeno e o tolueno; hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), desde naftalenos a pirenos; e vários isômeros alquilados. Anualmente, grandes quantidades desses compostos impactam ambientes tanto aeróbios quanto anaeróbios, tais como aquíferos, corpos hídricos superficiais, solos e sedimentos terrestres e marinhos (FOGHT, 2008).

Os hidrocarbonetos monoaromáticos benzeno, tolueno, etilbenzeno e os isômeros do xileno (BTEX) (Figura 2.1) são compostos amplamente utilizados como solventes nas indústrias químicas e petroquímicas e podem corresponder a até aproximadamente 18%, em massa, de uma mistura padrão de gasolina (JO *et al.*, 2008a; MANOHAR; KAREGOUDAR, 1998; MAZZEO *et al.*, 2010). Esses compostos possuem como principais características a presença do anel benzênico em sua estrutura molecular, o caráter volátil e elevada solubilidade em água quando comparado a outros hidrocarbonetos presentes na gasolina, como os alifáticos (DOU *et al.*, 2008; FARHADIAN *et al.*, 2009). A solubilidade dos hidrocarbonetos monoaromáticos é da ordem de 3 a 5 vezes maior que a dos alifáticos com o mesmo número de carbonos (TIBURTIUS; PERALTA-ZAMORA; LEAL, 2004). Além disso, devido ao seu baixo coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ) (Tabela 2.1), também apresentam alta mobilidade em sistemas solo-água, facilitando a contaminação de águas superficiais e subterrâneas (NAKHLA, 2003; TIBURTIUS; PERALTA-ZAMORA; LEAL, 2004).

Figura 2.1 – Estrutura molecular dos compostos BTEX

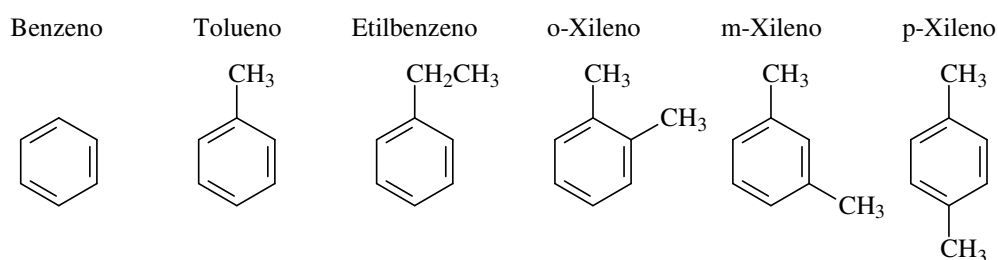


Tabela 2.1 – Parâmetros físico-químicos importantes na mobilidade de BTEX em água.

Composto	Fórmula química	Solubilidade em água a 25 °C (mg·L <sup>-1</sup> )	Log K <sub>ow</sub>
Benzeno	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	1785,5	2,13
Tolueno	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>	532,6	2,73
Etilbenzeno	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	161,5	3,15
o-Xileno	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	171,5	3,12
m-Xileno	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	161,5	3,20
p-Xileno	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	181,6	3,15

Fonte: Farhadian *et al.* (2008).

K<sub>ow</sub>, coeficiente de partição octanol-água.

Geralmente, os compostos BTEX entram em contato com o meio ambiente através de processos bioquímicos naturais, deposição atmosférica, vazamentos de tubulações e tanques subterrâneos de armazenamento de gasolina, disposição imprópria de efluentes, derrames acidentais no transporte de produtos petrolíferos e lixiviação de aterros sanitários (CAVALCANTE *et al.*, 2010; DE NARDI; ZAIAT; FORESTI, 2007; PHELPS; YOUNG, 1999). Devido à sua elevada volatilidade, os BTEX, geralmente, encontram-se em baixas concentrações (ng·L<sup>-1</sup> ou µg·L<sup>-1</sup>) em águas superficiais. No entanto, em águas subterrâneas essas concentrações podem ser mais elevadas, sendo, então, prioridade o monitoramento desses compostos em lençóis subterrâneos, os quais podem ser fonte de água destinada ao consumo humano (MAZZEO *et al.*, 2010). Para vazamentos de tanques de gasolina, as concentrações de cada composto BTEX em águas subterrâneas podem chegar a 20 mg·L<sup>-1</sup> próximo à fonte de poluição, mas, comumente, variam de 0,4 a 1,0 mg·L<sup>-1</sup> em plumas de contaminação anaeróbias, cuja grande maioria não supera 150 m de extensão (CORSEUIL *et al.*, 1998; NEWELL; CONNOR, 1998; RUIZ-AGUILAR; O'REILLY; ALVAREZ, 2003; ULRICH *et al.*, 2010).

Dentre esses compostos, aquele que confere maior risco à saúde humana é o benzeno. Estudos realizados por diversas agências de saúde comprovam que o seu caráter tóxico está diretamente ligado ao seu potencial carcinogênico e mutagênico, que afetam principalmente a medula óssea, podendo causar leucemia, o tipo de câncer mais comum relacionado à exposição prolongada ao benzeno (GAUJAC *et al.*, 2008; HELENO *et al.*, 2010; PAVÓN *et al.*, 2007; TIBURTIUS; PERALTA-ZAMORA; LEAL, 2004). Os demais compostos não têm relação direta com o desenvolvimento de câncer, porém exposições crônicas a tolueno podem acarretar disfunções hepáticas e gastrointestinais, enquanto o etilbenzeno, quando inalado, pode causar danos ao sistema respiratório, além de provocar

irritações nos olhos e tonturas. Os isômeros dos xilenos, por sua vez, podem afetar o cérebro, causando confusão mental, dores de cabeça, perda de memória e, em elevadas concentrações, pode levar à inconsciência e à morte por depressão do sistema nervoso central (GUSMÃO, 2005; HELENO *et al.*, 2010).

Portanto, devido aos sérios riscos ao meio ambiente e à saúde humana, a legislação tem se tornado cada vez mais restritiva quanto à presença dos BTEX em águas. Tanto a agência de proteção ambiental norte-americana (USEPA, *United States Environmental Protection Agency*) quanto o Ministério da Saúde, por meio da Portaria nº 2.914 de 2011, estabelecem limites máximos para a concentração de benzeno, tolueno, etilbenzeno e isômeros do xileno em água destinada ao consumo humano. A legislação brasileira determina que não haja concentração maior do que 5, 170, 200 e 300  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, respectivamente (MS, 2011).

## 2.2 Determinação de BTEX

Os métodos normalizados nacionais e internacionais não apresentam uma metodologia analítica exclusiva para a determinação de BTEX em matrizes aquosas. Geralmente, esses compostos são determinados, de forma indireta, na análise de compostos orgânicos voláteis (VOC, *volatile organic compounds*) (APHA, 2005). Além disso, a maioria dos métodos normalizados de detecção de BTEX é direcionada para a caracterização da gasolina (SILVA *et al.*, 2009). Por isso, na literatura, podem-se encontrar vários estudos sobre desenvolvimento, otimização e validação de metodologias analíticas para a identificação e quantificação de BTEX em matrizes aquosas (EZQUERRO *et al.*, 2004; GAUJAC *et al.*, 2008; HELENO *et al.*, 2010; MENÉNDEZ *et al.*, 2000; PAVÓN *et al.*, 2007; SAKATA *et al.*, 2004).

Os métodos analíticos cromatográficos mostram-se bastante atrativos por apresentarem facilidade na separação, identificação e quantificação dessas espécies químicas, e por serem capazes de detectar baixas concentrações dos compostos em amostras aquosas. Dentre esses métodos, a cromatografia gasosa (GC, *gas chromatography*) é a técnica mais indicada para a determinação dos BTEX, já que são compostos bastante voláteis (CARO; SERRANO; GALLEGU, 2007; DEMEESTERE *et al.*, 2007; PAVÓN *et al.*, 2007).

A detecção e a quantificação dos compostos pelo uso de cromatografia gasosa são realizadas por meio de detectores sensíveis aos analitos em estudo, sendo os mais utilizados para compostos monoaromáticos: detector por ionização de chama (FID, *flame ionization*

*detector*), detector por captura de elétrons (ECD, *electron capture detector*), detector por fotoionização (PID, *photoionization detector*) e espectrometria de massas (MS, *mass spectrometry*) (CAVALCANTE *et al.*, 2010; CHAI; FALABELLA; TEJA, 2005; ES'HAGHI; EBRAHIMI; HOSSEINI, 2011; HAN; MA; CHEN, 2006; KAMAL; KLEIN, 2010).

Devido à elevada volatilidade dos BTEX, à sensibilidade do método analítico supracitado e à necessidade de analisá-los em baixas concentrações (traços), é recomendado que a amostra a ser analisada passe por um processo de pré-concentração (CAVALCANTE *et al.*, 2010; DEMEESTERE *et al.*, 2007). Raros são os estudos para a determinação de BTEX em água por injeção direta da amostra devido aos baixos limites de detecção exigidos pela análise e às inúmeras desvantagens que esse método de injeção pode trazer, tais como possíveis interferências causadas pelo efeito de matriz e pela não compatibilidade da água com a maioria das fases estacionárias das colunas capilares utilizadas para a separação dos compostos por CG (KUBINEC *et al.*, 2005).

Vários estudos utilizando técnicas de extração baseadas em princípios físico-químicos estão disponíveis na literatura, tais como extração líquido-líquido (ELL) (DEWULF; VAN LANGENHOVE, 1999; GOLFINOPOULOS; LEKKAS; NIKOLAOU, 2001), extração por *headspace* (HS), extração em fase sólida (SPE, *solid phase extraction*) e micro-extração em fase sólida (SPME, *solid phase microextraction*) (CARO; SERRANO; GALLEGRO, 2007; CAVALCANTE *et al.*, 2010; ES'HAGHI; EBRAHIMI; HOSSEINI, 2011; KAMAL; KLEIN, 2010).

A extração por HS é definida como uma técnica simples que envolve o equilíbrio termodinâmico entre as fases aquosa e gasosa de substâncias voláteis dentro de um frasco fechado sob condições constantes de temperatura (SAKATA *et al.*, 2004). Por ser considerada uma técnica bastante sensível, destaca-se na análise de compostos monoaromáticos, como os BTEX, em diferentes matrizes ambientais aquosas, pois tais analitos podem ser determinados sem a interferência de outros componentes não-voláteis presentes na amostra (GOBATO; LANÇAS, 2001; KOLB, 1999).

A extração por HS aliada à cromatografia gasosa (HS-GC, *headspace-gas chromatography*) é um procedimento que pode ser realizado em dois modos: estático ou dinâmico (por exemplo, *Purge and trap*, P&T) (KOLB; ETTRE, 2006). Entretanto, a técnica de extração por HS estático apresenta uma série de vantagens em relação à por HS dinâmico, tais como boa repetibilidade (coeficiente de variação entre 4 e 10%), instrumentação mais simples e elevadas recuperações (entre 89 e 110%) (DEMEESTERE *et al.*, 2007; KETOLA *et al.*, 1997; MENÉNDEZ *et al.*, 2000; RIDGWAY; LALLJIE; SMITH, 2007; SAFAROVA *et*

*al.*, 2004). Além disso, o sistema P&T exige uma instrumentação mais complexa, pode sofrer interferência pelo vapor de água formado, correr riscos de contaminação e requerer um tempo de análise muito longo por amostra. Por isso, a técnica de HS estático tem sido preferivelmente utilizada em diversas investigações (KETOLA *et al.*, 1997; KOLB, 1999).

Alguns parâmetros experimentais podem influenciar diretamente na eficiência do método de extração por HS, tais como temperatura, tempo de extração, volume de amostra e salinidade. Portanto, a fim de melhorar o processo e, conseqüentemente, aumentar a sensibilidade da análise, é recomendado que tais parâmetros sejam otimizados (CAVALCANTE *et al.*, 2010; FERREIRA *et al.*, 2007; GAUJAC *et al.*, 2008; HELENO *et al.*, 2010; MENÉNDEZ *et al.*, 2000).

Geralmente, a otimização de diversos processos é realizada de maneira univariada, ou seja, utilizando-se o clássico sistema de uma variável por vez. Contudo, por não considerar a interação entre as variáveis, o resultado obtido não necessariamente corresponde às condições que levam ao ótimo verdadeiro, pois, principalmente em sistemas químicos, as variáveis costumam se correlacionar fortemente, interagindo através de mecanismos que proporcionam efeitos sinérgicos ou antagônicos. Portanto, caso a interação entre as variáveis não seja considerada, o processo de otimização pode apresentar pouco valor (PERALTA-ZAMORA; MORAIS; NAGATA, 2005). Como alternativa, destaca-se a técnica de planejamento experimental fatorial, a qual permite avaliar simultaneamente o efeito de um grande número de variáveis e de suas interações a partir de um número reduzido de ensaios experimentais (PERALTA-ZAMORA; MORAIS; NAGATA, 2005; RODRIGUES; IEMMA, 2009).

Mesmo assim, a literatura ainda é escassa quanto a estudos de otimização (uni ou multivariados) de processos de extração por *headspace* estático (BIANCHI *et al.*, 2002; CAVALCANTE *et al.*, 2010; HELENO *et al.*, 2010; MENÉNDEZ *et al.*, 2000), sendo raros os estudos que utilizaram técnicas de otimização multivariada como o planejamento experimental (HELENO *et al.*, 2010).

### **2.3 Processos de remoção de BTEX**

Atualmente, existe uma grande procura por tecnologias de tratamento que sejam capazes de remover esses compostos de águas e que atendam a uma série de fatores, dentre os quais se podem apontar: a busca por processos mais eficientes, atendimento às exigências

ambientais, processos menos onerosos, unidades mais compactas que operem com maior flexibilidade e com boa eficiência, menor custo de instalação e manutenção (MELLO, 2007).

Existem métodos não biológicos (físicos, químicos e físico-químicos) e biológicos aplicados na remoção de BTEX presentes em águas contaminadas. Esses métodos podem ainda ser divididos em tecnologias *in situ* (remoção realizada no próprio ambiente contaminado) ou *ex situ* (remoção do material contaminado para tratamento em local externo ao de sua origem) (FARHADIAN *et al.*, 2008). A Tabela 2.2 apresenta um resumo das principais tecnologias *in situ* e *ex situ* de remediação de ambientes contaminados por óleo, muitas das quais serão detalhadas adiante.

Tabela 2.2 – Resumo dos métodos de remediação disponíveis para águas contaminadas por petróleo e seus derivados.

<b>Método</b>	<b><i>In situ</i></b>	<b><i>Ex situ</i></b>
Físico	Eletrorremediação Barreira Contenção hidráulica <i>Air sparging</i>	Eletrodialise <i>Air stripping</i> Filtração (membrana) Adsorção em carbono ou zeólita
Químico	Injeção de oxidantes químicos	Coagulação, floculação e precipitação Processos oxidativos avançados (POAs)
Biológico	Biorremediação (atenuação natural, bioestimulação)	Biorremediação (biorreatores aeróbios e anaeróbios)

Fonte: Farhadian *et al.* (2008).

### 2.3.1 Processos não biológicos

Os processos não biológicos utilizados na remoção de hidrocarbonetos incluem a adsorção em carvão ativado ou zeólita, *air stripping*, oxidação fotocatalítica, extração de vapor do solo, filtração por membranas, clarificação química, barreiras reativas, dentre outros (AYOTAMUNO *et al.*, 2006; FARHADIAN *et al.*, 2008; SHAH; NOBLE; CLOUGH, 2004; VIDAL, 2011). Em geral, os processos físicos permitem uma eficiente remoção dos hidrocarbonetos voláteis. Entretanto, o seu caráter não destrutivo implica na necessidade de processos auxiliares, orientados a adsorver, degradar ou dispor os hidrocarbonetos previamente extraídos (DOS SANTOS, 2012).

O *air stripping* é uma tecnologia de remoção por aeração que permite a transferência de contaminantes orgânicos da fase líquida (águas superficiais ou subterrâneas) para a fase gasosa, onde então o gás é coletado e tratado (USEPA, 2012a). Shah, Noble e

Clough (2004) estudaram a eficiência da técnica de *air stripping* na remoção de compostos orgânicos voláteis (COV), incluindo os BTEX, e concluíram que, apesar de o sistema ser bastante utilizado em indústrias petroquímicas e demonstrar boa eficiência de remoção, tal técnica não era muito indicada sob o ponto de vista ambiental, já que havia apenas uma transferência dos poluentes da fase líquida para a gasosa e não a sua mineralização (TIBURTIUS; PERALTA-ZAMORA; LEAL, 2004).

Da mesma forma, a adsorção por carvão ativado granular é uma técnica viável para purificação de águas contaminadas por BTEX, mas os elevados custos com a recuperação do adsorvente tornam esse processo bastante oneroso (DAIFULLAH; GIRGIS, 2003). Lourenço (2006) analisou a adsorção dos BTEX em uma coluna (30 cm de altura x 7,5 cm de diâmetro) que continha peróxido de hidrogênio e carvão ativado e obteve eficiências de remoção em todos os BTEX superiores a 97%.

As zeólitas são aluminossilicatos hidratados estruturados em redes cristalinas tridimensionais, compostas de tetraedros de  $\text{AlO}_4$  e  $\text{SiO}_4$ . As propriedades de troca catiônica das zeólitas podem ser exploradas para modificar sua superfície externa a fim de que outras classes de compostos (aniônicos e orgânicos não polares) também possam ser adsorvidas (VIDAL, 2011). Vidal *et al.* (2012) estudaram a adsorção de BTEX por zeólita modificada com surfactante em testes em batelada e obteve eficiências de remoção acima de 80% para todos os BTEX.

Os processos oxidativos avançados (POAs) são definidos como processos de oxidação em que radicais hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ) são gerados para atuar como agentes oxidantes químicos. Devido à sua alta reatividade, podem reagir com uma grande variedade de compostos orgânicos e, quando em quantidade suficiente, provocam a mineralização da matéria orgânica à dióxido de carbono, água e íons inorgânicos (DONAIRE, 2007). Atualmente, os processos oxidativos avançados têm aparecido como uma boa alternativa de tratamento de esgotos e águas contaminadas, principalmente em razão da sua elevada eficiência de remoção, mesmo para compostos mais resistentes à degradação como os BTEX (TIBURTIUS; PERALTA-ZAMORA; EMMEL, 2005). Tiburtius, Peralta-Zamora e Emmel (2005) avaliaram a remoção dos BTEX por meio de POA ( $\text{TiO}_2/\text{UV}$ ,  $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ , Fenton e foto-Fenton) e obtiveram eficiências acima de 90% para todos os compostos em aproximadamente 5 minutos de contato. Entretanto, os aspectos econômicos ainda são a maior desvantagem de tais processos (FARHADIAN *et al.*, 2008).

*Air Sparging* é uma técnica que consiste na injeção de ar sob pressão abaixo do nível d'água com o objetivo de se aumentar a remoção de contaminantes voláteis presentes na

zona saturada (região onde os poros estão completamente preenchidos por água) (DONAIRE, 2007).

### 2.3.2 Processos biológicos

Entre as várias tecnologias disponíveis para o tratamento de águas contendo BTEX, os tratamentos biológicos vêm recebendo grande destaque, pois, além de apresentar menor consumo de energia, podem ser potencialmente eficientes, já que a mineralização promove a destruição permanente dos resíduos e elimina os riscos de futuras contaminações, aumentando o nível de aceitação por parte da opinião pública (SHIM; SHIN; YANG, 2002; VIDALI, 2001). Ademais, o tratamento biológico pode ser combinado a outros processos para o aumento da eficiência global (MELLO, 2007).

Os processos biológicos de degradação (biodegradação) dos compostos orgânicos são realizados por meio da quebra desses compostos por microrganismos capazes de transformar compostos complexos em produtos menos tóxicos, tais como CO<sub>2</sub>, água e metano (BITTKAU *et al.*, 2004; FARHADIAN *et al.*, 2009; MARTÍNEZ; CUERVO-LÓPEZ; GOMEZ, 2007; MELLO, 2007). A biodegradação pode ser dividida em três categorias: (a) mineralização, em que os compostos químicos orgânicos são transformados em compostos inorgânicos, tais como dióxido de carbono, água e amônia; (b) biotransformação, em que os compostos químicos orgânicos são transformados em estruturas menores e (c) co-metabolismo, em que outro composto é metabolizado inicialmente ou simultaneamente a um composto específico (MELLO, 2007).

Como já foi dito anteriormente, o tratamento biológico dos BTEX pode ser realizado *in situ* ou *ex situ*. As tecnologias *in situ* apresentam baixos custos e facilidade operacional, boa eficiência e a redução da formação de subprodutos tóxicos. Entretanto, são técnicas que não estão sob condições controladas, fazendo com que as variáveis presentes no meio possam interferir negativamente no processo de tratamento, além de também requererem um longo tempo para a obtenção de boas eficiência de remoção (DOTT *et al.*, 1995). da Silva, Ruiz-Aguilar e Alvarez (2005) estudaram a biorremediação *in situ* de BTEX com adição de sulfato, ferro (III) e nitrato e obtiveram eficiências médias de remoção de 32% para o benzeno, 49% de tolueno, 77% de etilbenzeno, e cerca de 30% para xilenos. Por outro lado, os processo *ex situ* conduzidos por meio de reatores biológicos sob condições controladas, como pH, temperatura, aeração e agitação, têm se mostrado bastante eficiente na remoção de BTEX de águas contaminadas (CATTONY *et al.*, 2005; DE NARDI *et al.*, 2005; DOU *et al.*,



2008; FARHADIAN *et al.*, 2008; GUSMÃO *et al.*, 2007; MARTÍNEZ; CUERVO-LÓPEZ; GOMEZ, 2007). Contudo, também apresentam desvantagens, como necessidade de bombeamento da água contaminada, maior demanda de energia, produção de lodo, problemas de volatilização de BTEX e adsorção desses compostos em sólidos (FARHADIAN *et al.*, 2008).

### 2.3.2.1 Tratamento aeróbio

Os processos aeróbios de tratamento são conduzidos por comunidades microbianas heterogêneas, que estabelecem complexas interações ecológicas. A biomassa é constituída de diversas espécies microbianas, incluindo predominantemente bactérias, fungos e protozoários. A respiração aeróbia se baseia na presença de um doador de elétrons, a matéria orgânica poluente, e de um receptor final de elétrons, o oxigênio. A grande diferença de potencial de oxi-redução entre o receptor e o doador de elétrons permite que as moléculas orgânicas sejam oxidadas a CO<sub>2</sub> com grande produção de ATP (adenosina trifosfato). Dessa disponibilidade energética, decorre acentuado crescimento microbiano no processo aeróbio (MELLO, 2007).

Os principais biorreatores aeróbios utilizados na remoção de BTEX de águas contaminadas empregam sistemas de crescimento microbiano aderido em diferentes meios suportes (poliuretano, lascas de madeira, conduítes, areias etc.), pois apresentam uma elevada área superficial para o crescimento microbiano, são compactos, possuem maior capacidade de retenção de biomassa metabolicamente ativa quando comparado aos sistemas de crescimento suspenso, e podem operar com reduzidos tempos de detenção hidráulica (TDH) (KERMANSOHI POUR; KARAMANEV; MARGARITIS, 2005; LANGWALDT; PUHAKKA, 2000). Dentre os vários reatores podem ser destacados os sistemas de lodos ativados de filme fixo, reator de leito fluidificado, reator de leito fixo submerso e reator biológico com leito móvel (FARHADIAN *et al.*, 2008; GUERIN, 2002; OHLEN *et al.*, 2005; PRUDEN *et al.*, 2003; ZEIN *et al.*, 2006).

Os processos aeróbios de tratamento têm desempenhado um importante papel na remediação de águas contaminadas por derivados do petróleo (SANTAELLA *et al.*, 2009), incluindo os BTEX, apresentando eficiências de até 99% de remoção (OHLEN *et al.*, 2005; ZEIN *et al.*, 2006). Mozo *et al.* (2012) usaram reatores em batelada sequencial inoculados com uma cultura mista adaptada para tratar os compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno e p-xileno e obtiveram eficiências de remoção acima de 99% em apenas 2 h. Guerin (2002)

trabalhou com reatores de leito fluidificado e de leito fixo submerso para remoção de BTEX e obteve, para os dois sistemas, eficiências de remoção de aproximadamente 90% com TDH variando de 3 a 29 h. Entretanto, esses processos podem apresentar perdas significativas dos compostos por volatilização durante a aeração e elevada produção de lodo quando comparado aos processos anaeróbios (FARHADIAN *et al.*, 2008).

### 2.3.2.2 Tratamento anaeróbio

O processo anaeróbio, ou digestão anaeróbia é um processo natural e complexo que ocorre na ausência de oxigênio molecular, envolvendo um consórcio de microrganismos que atuam de maneira simbiótica na conversão da matéria orgânica complexa (carboidratos, proteínas, lipídios) em metano, gás carbônico, água, gás sulfídrico, amônia e nitrogênio gasoso, além de novas células bacterianas. Dentre as vantagens apresentadas pelo processo de tratamento anaeróbio, podem-se citar: baixo consumo de energia e produção de lodo, menor requerimento de espaço, baixos custos e produção de metano, um gás combustível com alto poder calorífico (DEMIREL; YENIGÜN, 2002; LEMA; OMIL, 2001; LETTINGA; HULSHOFF POL, 1991; LIGERO; DE VEGA; SOTO, 2001; MELLO, 2007).

Avanços significativos foram realizados nos últimos anos no que diz respeito à biodegradação anaeróbia de hidrocarbonetos monoaromáticos (COATES; ANDERSON, 2000; DOU *et al.*, 2010). Até 1984, acreditava-se que a biodegradação de compostos aromáticos não era possível na ausência de oxigênio molecular (TRIGUEROS, 2008). Porém, estudos mostraram que contaminantes antes considerados recalcitrantes, como os BTEX, podem ser biodegradados na ausência de oxigênio por uma diversidade de microrganismos, incluindo bactérias fermentativas, redutoras de sulfato, desnitrificantes, redutoras de ferro etc. (DOU *et al.*, 2008; FARHADIAN *et al.*, 2010; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2009; MAZZEO *et al.*, 2010).

Assim, a literatura reporta que o uso de aceptores finais de elétrons, tais como  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Mn}^{4+}$ , na remediação anaeróbia de águas contaminadas com BTEX tem melhorado bastante a eficiência de diversos sistemas de tratamento (COATES; ANDERSON, 2000; DA SILVA; RUIZ-AGUILAR; ALVAREZ, 2005; DOU *et al.*, 2008; DOU *et al.*, 2010; FARHADIAN *et al.*, 2010). Adicionalmente, foi demonstrado que a degradação anaeróbia de benzeno e tolueno também pode ser associada à redução de substâncias húmicas (CERVANTES *et al.*, 2001; CERVANTES *et al.*, 2011). A Tabela 2.3 mostra alguns exemplos de cepas bacterianas que degradam anaerobiamente os BTEX.

Tabela 2.3 – Exemplos de cepas bacterianas que degradam anaerobiamente benzeno, tolueno, etilbenzeno e os xilenos e seus respectivos aceptores de elétrons.

Cepa	Microrganismos <sup>a</sup>	B	T	E	X	Referência
K172	<i>Thauera aromatica</i>		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>			Schocher <i>et al.</i> (1991)
EB1	<i>Azoarcus</i> sp. EB1			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		Ball <i>et al.</i> (1996)
JJ	<i>Dechloromonas</i> sp. JJ	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>			Coates <i>et al.</i> (2001)
EbS7	Cepa mXyS1 (96%)			SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		Kniemeyer <i>et al.</i> (2003)
OX39	<i>Desulfotomaculum</i> R-acetonA170 (96%)		SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Morasch <i>et al.</i> (2004)
RCB	<i>Dechloromonas</i> <i>aromatica</i> RCB	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Chakraborty <i>et al.</i> (2005)
H3	<i>Desulfotignum</i> <i>toluenicum</i>		SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>			Ommedal e Torsvik (2007)

Fonte: Weelink, van Eekert e Stams (2010).

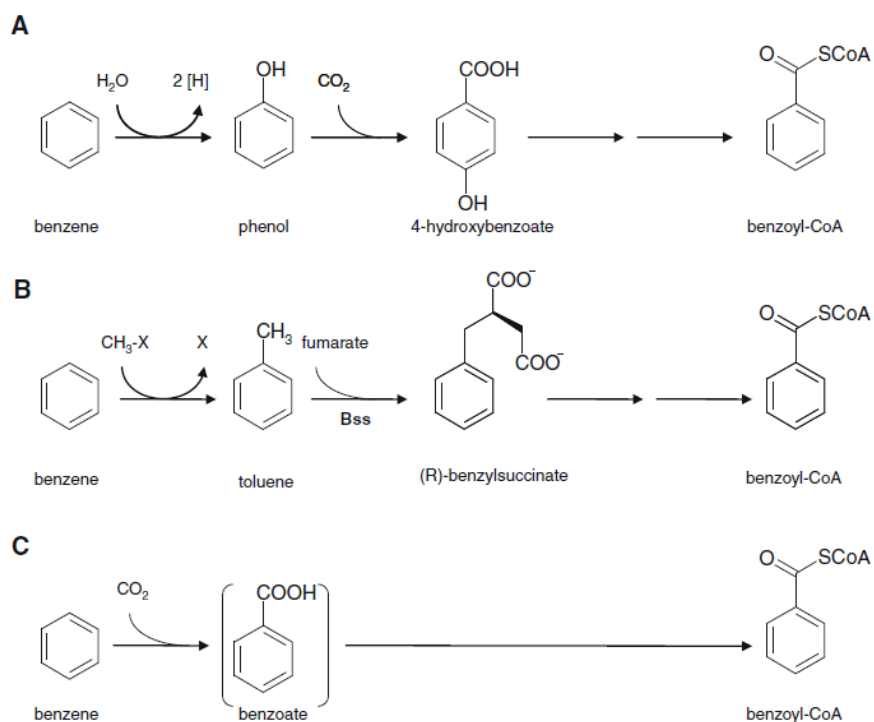
B, benzeno; T, tolueno; E, etilbenzeno; X, xilenos.

<sup>a</sup>Nome completo do microrganismo ou do de maior similaridade (% baseada no 16S rRNA).

- Biodegradação anaeróbia de benzeno

O benzeno é o composto mais recalcitrante dos compostos BTEX devido à estabilidade das ligações carbono-carbono e à estrutura simétrica do anel, que o tornam altamente resistente ao processo de clivagem. A degradação desse hidrocarboneto aromático tem sido observada sob condições metanogênicas ou na presença de aceptores alternativos de elétrons, como nitrato, sulfato, Fe (III), Mn (IV) e (per)clorato, em diferentes estudos com microcosmos, colunas de sedimentos ou culturas de enriquecimento (WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010). A partir de estudos de biologia molecular, valiosas informações puderam ser obtidas sobre os organismos capazes de degradar benzeno, sugerindo que microrganismos relacionados com o gênero *Pelotomaculum* e com a família Desulfobacteraceae parecem ter um papel importante na sua degradação (KLEINSTEUBER *et al.*, 2008; LABAN *et al.*, 2009; ULRICH; EDWARDS, 2003). Porém, o isolamento de organismos capazes de degradar esse composto (*Azoarcus* e *Dechloromonas*) anaerobiamente ainda é relativamente recente (COATES *et al.*, 2001; KASAI *et al.*, 2006). As vias de degradação anaeróbia do benzeno não são conhecidas com precisão até agora embora os primeiros passos na transformação desse composto possam constituir hidroxilação, carboxilação ou metilação com a formação conseguinte do intermediário central, benzoil-CoA (Figura 2.2) (WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010).

Figura 2.2 – Possíveis rotas metabólicas de degradação anaeróbica inicial do benzeno.

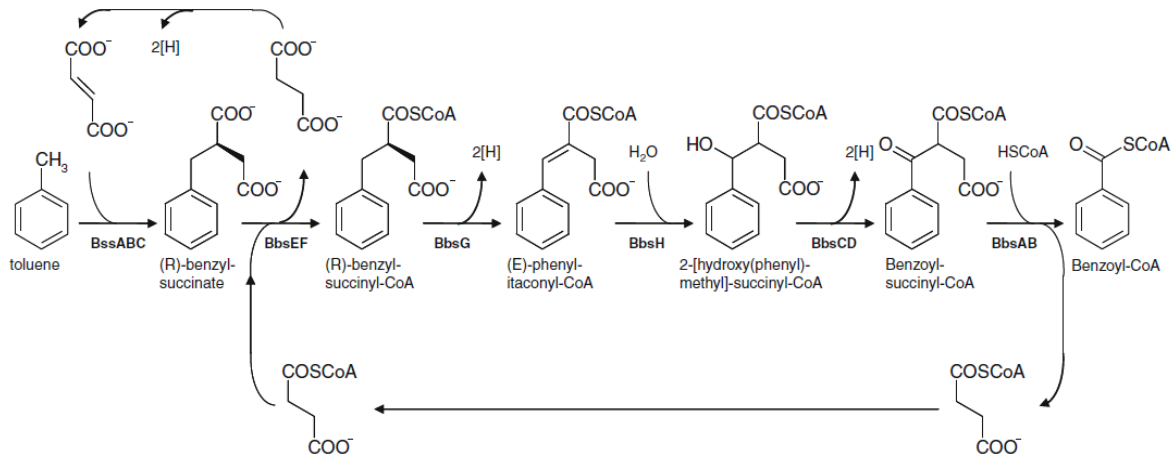


Fonte: Weelink, van Eekert e Stams (2010). A, Hidroxilação; B, metilação; C, carboxilação.

- Biodegradação anaeróbica de tolueno

A biodegradação de tolueno por microrganismos anaeróbios tem sido amplamente estudada. Esse composto pode ser degradado por microrganismos anaeróbios na presença de diversos aceptores de elétrons, como, por exemplo, nitrato, sulfato, ferro e substâncias húmicas (WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010). Espécies relacionadas com os gêneros *Azoarcus* e *Thauera* usam nitrato como aceptor (ANDERS *et al.*, 1995; EVANS *et al.*, 1991; FRIES *et al.*, 1994), enquanto *Desulfobacula toluolica* e *Desulfotignum toluenicum* usam sulfato (OMMEDAL; TORSVIK, 2007; RABUS *et al.*, 1993). Alguns organismos, como diferentes espécies de *Geobacter*, são capazes de usar Fe (III) e Mn (IV) como aceptores de elétrons na degradação de tolueno. A via de degradação mais comumente observada em diferentes microrganismos envolve a ativação do tolueno por adição de fumarato, formando assim benzilsuccinato (Figura 2.3) (LEUTHNER; HEIDER, 1998).

Figura 2.3 – Rota metabólica de degradação anaeróbica inicial do tolueno.

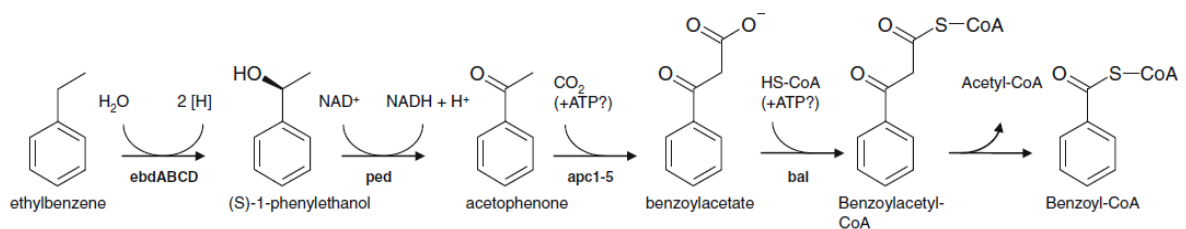


Fonte: Weelink, van Eekert e Stams (2010).

- Biodegradação anaeróbica de etilbenzeno

Sulfato e nitrato são ainda usados como aceptores de elétrons na biodegradação do etilbenzeno. Microrganismos tais como *Azoarcus* e *Dechloromonas* são bactérias redutoras de nitrato (BALL *et al.*, 1996; MECHICHI *et al.*, 2002), enquanto só uma bactéria redutora de sulfato que degrada etilbenzeno foi isolada, mas não identificada (a cepa EbS7) (KNIEMEYER *et al.*, 2003). A via de degradação que se observa na Figura 2.4 tem sido encontrada em cepas desnitrificantes (JOHNSON; PELLETIER; SPORMANN, 2001; RABUS *et al.*, 2002). A etapa inicial do processo é catalisada por uma etilbenzeno desidrogenase que oxida o grupo metil, formando (S)-1-feniletanol como primeiro intermediário. A rota continua até a formação do benzoyl-CoA, o qual é o intermediário central na degradação anaeróbica dos compostos aromáticos. Na cepa redutora de sulfato, uma Deltaproteobacteria, a ativação do etilbenzeno se consegue pela adição de fumarato, de maneira semelhante ao tolueno (KNIEMEYER *et al.*, 2003).

Figura 2.4 – Rota metabólica de degradação anaeróbica inicial do etilbenzeno.

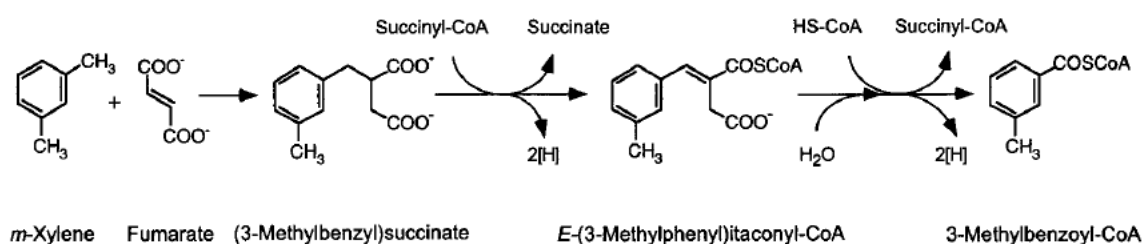


Fonte: Weelink, van Eekert e Stams (2010).

- Biodegradação anaeróbia de xileno

A biodegradação de xilenos por microrganismos anaeróbios é reportada com o uso de sulfato e nitrato como aceptores de elétrons (EDWARDS *et al.*, 1992; ZEYER; KUHN; SCHWARZENBACH, 1986). Além disso, observa-se que os diferentes isômeros desse composto são degradados preferencialmente pelos organismos no processo anaeróbio. Várias culturas puras de organismos anaeróbios são capazes de degradar m-xileno (FRIES *et al.*, 1994; RABUS; WIDDEL, 1995), mas somente duas culturas puras de bactérias redutoras de sulfato capazes de degradar o-xileno são conhecidas (HARMS *et al.*, 1999; MORASCH *et al.*, 2004). As pesquisas sobre as rotas de degradação sugerem que o xileno é degradado em uma série de reações semelhantes à adição do fumarato na degradação de tolueno (Figura 2.5) (KRIEGER *et al.*, 1999).

Figura 2.5 – Rota metabólica de degradação anaeróbia inicial do m-xileno.



Fonte: Krieger *et al.* (1999).

## 2.4 Remoção de BTEX em sistemas anaeróbios operados em fluxo contínuo

Diversas configurações de reatores anaeróbios, como reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) (CATTONY *et al.*, 2005; DE NARDI *et al.*, 2002; DE NARDI *et al.*, 2005) e reator de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB), têm sido usados para biorremediação de águas contaminadas com hidrocarbonetos monoaromáticos (MARTÍNEZ; CUERVO-LÓPEZ; GOMEZ, 2007; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2009).

A Tabela 2.4 compila alguns dos trabalhos sobre a remoção de BTEX em sistemas anaeróbios operados em fluxo contínuo. Pode-se observar que as eficiências variaram de 60 a aproximadamente 100%, sendo os melhores resultados obtidos em reatores com crescimento aderido. No entanto, esses estudos não apresentam discussões sobre a possível adsorção dos compostos no meio suporte ou sobre a possível volatilização desses compostos e a sua composição no biogás.

De modo geral, a eficiência dos biorreatores pode variar com a sua configuração, concentração afluente dos compostos, tipo de lodo de inóculo utilizado, o tempo de detenção hidráulica (TDH) empregado e tipo de acceptor de elétrons utilizado. Alguns estudos reportam redução da eficiência de remoção de BTEX com o aumento da concentração afluente desses poluentes (DE NARDI *et al.*, 2005; ENRIGHT; COLLINS; O'FLAHERTY, 2007; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2009). Entretanto, há estudos que mostram o contrário (GUSMÃO *et al.*, 2006) ou, até mesmo, nenhuma relação direta entre eficiência de remoção e concentração afluente dos BTEX (CATTONY *et al.*, 2007; MARTÍNEZ; CUERVO-LÓPEZ; GOMEZ, 2007; QUAN *et al.*, 2007). Normalmente, reatores suplementados com nitrato ou sulfato apresentam melhores eficiências de remoção e estabilidade operacional do que aqueles operados em condições metanogênicas (CATTONY *et al.*, 2005; GUSMÃO *et al.*, 2007). Por fim, embora a literatura não reporte muitos estudos acerca da influência do TDH, a sua redução parece influenciar de forma negativa na eficiência de remoção de BTEX (DE NARDI *et al.*, 2002; DE NARDI *et al.*, 2005).

Tabela 2.4 – Sistemas anaeróbios operados em fluxo contínuo na remoção de BTEX (continua).

Reator <sup>a</sup>	TDH (h)	T (°C)	Tipo de BTEX <sup>b</sup>	Conc. (mg·L <sup>-1</sup> )	Co-substrato	Aceptor de elétrons	Conc. (mg·L <sup>-1</sup> )	Remoção (%)	Referência
RAHLF	13,5	27-33	B	9,7	Etanol	-	-	~99	de Nardi <i>et al.</i> (2002)
			T	7,1				~99	
			E	5,3				~98	
			o-X	5,6				~98	
			m,p-X	9,9				~99	
RAHLF	5,3-13,5	27-33	B	11,8	Alquilbenzeno sulfonato linear	-	-	~97	de Nardi <i>et al.</i> (2002)
			T	8,7				~96	
			E	7,0				~96	
			o-X	8,0				~96	
			m,p-X	14,3				~98	
RAHLF	11,4	29-31	B	3,3-14,3	Etanol	-	-	80-90	de Nardi <i>et al.</i> (2005)
			T					80-93	
			E					86-97	
			o-X					84-96	
			m,p-X					85-98	
RAHLF	12	28-32	T	2-9	Etanol	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	500	~100	Cattony <i>et al.</i> (2005)
RAHLF	12	28-32	B	13-27	Etanol	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1525-2460	93-99	Gusmão <i>et al.</i> (2006)
			T	31				99	
			E	33				99	
			m-X	32				99	
RAHLF	12	28-32	B	2-10	Etanol	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	500	~100	Cattony <i>et al.</i> (2007)
RAHLF	11,4	29-31	B	5,5-15	Etanol	-	-	60-67	de Nardi, Zaiat e Foresti (2007)
			T	5-13				65-70	
			E	4,9-12				68-73	
			o-X	4,9-12				64-69	



Tabela 2.4 – Sistemas anaeróbios operados em fluxo contínuo na remoção de BTEX (conclusão).

Reator <sup>a</sup>	TDH (h)	T (°C)	Tipo de BTEX <sup>b</sup>	Conc. (mg·L <sup>-1</sup> )	Co-substrato	Aceptor de elétrons	Conc. (mg·L <sup>-1</sup> )	Remoção (%)	Referência
EGSB	24-48	15	T	6-85	Etanol e AGV	-	-	82-100	Enright, Collins e O’Flaherty (2007)
RAHLF	12	28-32	B	41	Etanol	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	2303	89	Gusmão <i>et al.</i> (2007)
			T	28			1997	99	
			E	31			2427	99	
			o-X	29			2290	94	
			m-X	28			1851	99	
			p-X	32			2259	99	
UASB	48	30	T	55-275	Acetato	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1575	95-99	Martínez, Cuervo-López e Gomez (2007)
FA	24	30	B	6,5-33,5	Glicose, naftaleno e bifenil	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	88-975	~90	Quan <i>et al.</i> (2007)
EGSB	24	9-15	T	4,5-155	Etanol e AGV	-	-	72-96	McKeon <i>et al.</i> (2008)
UASB	48	30	T	55-219	Acetato	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	630	51-91	Martínez-Hernández <i>et al.</i> (2009)
RAHLF	13,5	29-31	B	1,4-6,7	Etanol	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	133-266	99	Ribeiro <i>et al.</i> (2013)
			T	1,6-4,9				99	
			E	1,6-3,7				99	
			o-X	1,4-4,2				99	
			m,p-X	2,6-7,2				99	

<sup>a</sup>Tipo de reator: RAHLF, reator anaeróbio horizontal de leito fixo; EGSB, *expanded granular sludge bed* (reator de leito granular expandido); UASB, *upflow anaerobic sludge blanket* (reator de manto de lodo e fluxo ascendente); FA, filtro anaeróbio.

<sup>b</sup>B, benzeno; T, tolueno; E, etilbenzeno; o-X, o- xileno; m-X, m-xileno; p-X, p-xileno; m,p-X, m,p-xilenos.



### 3 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA DE EXTRAÇÃO POR HEADSPACE PARA DETERMINAÇÃO DE BTEX EM ÁGUAS E EFLUENTES POR CROMATOGRAFIA GASOSA

#### 3.1 Introdução

Entre os diferentes compostos presentes no petróleo bruto e em seus derivados, os hidrocarbonetos monoaromáticos, como o benzeno, o tolueno, o etilbenzeno e os isômeros do xileno (BTEX), representam um importante grupo sob a perspectiva ambiental e de saúde humana, já que, mesmo em baixas concentrações, são muito tóxicos e potencialmente carcinogênicos (BIANCHIN *et al.*, 2012; CERVANTES *et al.*, 2011; HELENO *et al.*, 2010; MAZZEO *et al.*, 2010; PAIXÃO *et al.*, 2007).

Comparados a outros hidrocarbonetos do petróleo, especificamente os alifáticos, os BTEX são extremamente voláteis e têm elevada solubilidade em água ( $160-1800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) quando comparado a outros hidrocarbonetos presentes na gasolina, como os alifáticos, o que lhes permite alcançar uma grande extensão de contaminação no ar e em águas superficiais ou subterrâneas (FARHADIAN *et al.*, 2009; HASHEMI; JAHANSHAHI; HABIBI, 2012; JO *et al.*, 2008a).

As principais fontes de contaminação do meio ambiente por BTEX são deposição atmosférica, vazamentos de tubulações ou tanques de armazenamento de combustível subterrâneos, disposição inadequada de efluentes, derrames acidentais de produtos petrolíferos durante seu transporte e lixiviação de aterros sanitários (AIVALIOTI *et al.*, 2012; CAVALCANTE *et al.*, 2010; DE NARDI; ZAIAT; FORESTI, 2007; MORLETT-CHÁVEZ *et al.*, 2010; TRIGUEROS *et al.*, 2010).

Segundo Es'haghi, Ebrahimi e Hosseini (2011), para conhecer melhor a dinâmica dos BTEX no meio ambiente, são necessárias técnicas analíticas confiáveis e precisas para a detecção desses poluentes. Portanto, a cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (FID, *flame ionization detection*) e detecção por fotoionização (PID, *photoionization detection*) tem sido predominantemente utilizada por ser altamente eficiente na separação, na identificação e na quantificação desses compostos (CAVALCANTE *et al.*, 2010; DEMEESTERE *et al.*, 2007; GOBATO; LANÇAS, 2001).

No entanto, como os BTEX são geralmente encontrados em águas e efluentes em baixas concentrações ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  ou  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), tais métodos de análise necessitam de uma etapa de pré-concentração, como, por exemplo, extração líquido-líquido (LLE, *liquid-liquid*

*extraction*), extração por *headspace* (HS) e microextração em fase sólida (SPME, *solid phase microextraction*) (CAVALCANTE *et al.*, 2010; ES'HAGHI; EBRAHIMI; HOSSEINI, 2011; GOBATO; LANÇAS, 2001). Devido à alta volatilidade dos BTEX, a técnica de extração por *headspace* seguida de cromatografia gasosa (HS-GC, *headspace-gas chromatography*) tem sido utilizada de forma bastante eficiente, apresentando vantagens, como boa repetibilidade, instrumentação simples e elevada recuperação (MENÉNDEZ *et al.*, 2000; SAFAROVA *et al.*, 2004).

Alguns parâmetros experimentais podem influenciar diretamente na eficiência do método de extração por HS, tais como temperatura, tempo de extração, volume de amostra e salinidade. Portanto, a fim de melhorar o processo e, conseqüentemente, aumentar a sensibilidade da análise, é recomendado que tais parâmetros sejam otimizados (CAVALCANTE *et al.*, 2010; FERREIRA *et al.*, 2007; GAUJAC *et al.*, 2008; HELENO *et al.*, 2010; MENÉNDEZ *et al.*, 2000). Geralmente, a otimização de processos é realizada de maneira univariada, ou seja, utilizando-se o clássico sistema de uma variável por vez. Contudo, por não considerar a interação entre as variáveis, o resultado obtido não necessariamente corresponde às condições que levam ao ótimo verdadeiro, pois, principalmente em sistemas químicos, as variáveis costumam se correlacionar fortemente, interagindo através de mecanismos que proporcionam efeitos sinérgicos ou antagônicos. Portanto, caso a interação entre as variáveis não seja considerada, o processo de otimização pode apresentar pouco valor (PERALTA-ZAMORA; MORAIS; NAGATA, 2005). Como alternativa, destaca-se a técnica de planejamento experimental fatorial, a qual permite avaliar simultaneamente o efeito de um grande número de variáveis e de suas interações a partir de um número reduzido de ensaios experimentais (PERALTA-ZAMORA; MORAIS; NAGATA, 2005; RODRIGUES; IEMMA, 2009).

Entretanto, embora haja, na literatura, muitos trabalhos sobre desenvolvimento e validação de métodos para determinação de BTEX (AEPPLI *et al.*, 2008; CAVALCANTE *et al.*, 2010; DEMEESTERE *et al.*, 2007; ES'HAGHI; EBRAHIMI; HOSSEINI, 2011; GAUJAC *et al.*, 2008; HELENO *et al.*, 2010; MENÉNDEZ *et al.*, 2000), poucos utilizaram técnicas de planejamento experimental multivariado na otimização de processos de extração (GAUJAC *et al.*, 2008; HELENO *et al.*, 2010).

Assim, o objetivo deste estudo foi otimizar, empregando planejamento experimental multivariado, ou seja, delineamento composto central rotacional (DCCR), e validar um método analítico para detectar e quantificar compostos BTEX em águas e

efluentes utilizando extração por *headspace* seguida de cromatografia gasosa com detecção por fotoionização (HS-GC-PID, *headspace-gas chromatography-photoionization detection*).

## 3.2 Material e métodos

### 3.2.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes, ou seja, benzeno (99,5%, Dinâmica Química, Brasil), tolueno (99,5%, Vetec, Brasil), etilbenzeno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA), o-xileno (98,0%, Fluka, EUA), m-xileno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA), p-xileno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA), clorobenzeno (99,0%, Vetec, Brasil) e metanol (99,9%, Sigma-Aldrich, EUA), foram utilizados como adquiridos, sem purificação adicional.

As soluções padrão de BTEX utilizadas nas análises cromatográficas foram imediatamente preparadas em água ultrapura (sistema Milli-Q, EMD Millipore, EUA) a partir da diluição de uma solução estoque metanólica de BTEX de  $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . A solução metanólica de clorobenzeno (padrão interno) com concentração de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  foi preparada a partir da diluição do reagente puro e, posteriormente, adicionada a cada amostra para obter uma concentração final de  $100 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Em todas as determinações de BTEX, os padrões foram preparados diretamente em *vials* de vidro borossilicato para *headspace* (20 mL) (Supelco, EUA), previamente lavados com água ultrapura (sistema Milli-Q, EMD Millipore, EUA) em banho ultrassônico (Cristófoli Equipamentos de Biossegurança, Brasil). Em seguida, os *vials* foram imediatamente selados com septos de PTFE/silicone e lacres de alumínio (Supelco, EUA) a fim de evitar a volatilização dos compostos. Todos os padrões foram preparados em duplicata.

### 3.2.2 Extração e determinação de BTEX

A análise de BTEX foi realizada utilizando-se extração por *headspace* estático seguida de determinação e quantificação em cromatógrafo gasoso (Trace GC Ultra, Thermo Scientific, EUA) equipado com dois detectores em série – um detector por fotoionização (PID, *photoionization detector*) e um detector por ionização de chama (FID, *flame ionization detector*) – e um amostrador automático para *headspace* (Triplus HS, Thermo Scientific, EUA), o qual era provido de braço robótico, bandeja de amostras com 54 posições, unidade de extração por *headspace* estático equipada com forno de incubação com seis posições para

aquecer e agitar as amostras, e seringa aquecida de 3 mL para transferir o gás do *headspace* do *vial* para o cromatógrafo.

### 3.2.2.1 Otimização da extração de BTEX

Para otimizar as condições analíticas da extração por *headspace* de BTEX e, portanto, aumentar a sensibilidade da análise cromatográfica, usou-se um delineamento composto central rotacional (DCCR), ou seja, um planejamento fatorial completo  $2^4$  (quatro fatores com dois níveis) com a adição de oito pontos axiais e três repetições no ponto central, resultando em um total de 27 experimentos, os quais foram conduzidos de forma aleatória com uma solução padrão de BTEX contendo  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de cada composto.

As variáveis de projeto otimizadas (fatores) foram: salinidade, para avaliar o efeito da força iônica (efeito *salting out*), o volume de amostra líquida no *vial* para *headspace*, o tempo de incubação e a temperatura de extração. Os valores utilizados para cada fator no planejamento experimental estão apresentados na Tabela 3.1. A otimização multivariada dos parâmetros de extração foi realizada pelas rotinas estatísticas do programa de computador Statgraphics Centurion XV, em que as variáveis de resposta eram as áreas dos picos cromatográficos de cada composto BTEX.

Tabela 3.1 – Valores dos fatores utilizados no delineamento composto central rotacional para a otimização da extração por *headspace* de BTEX.

Fatores	Níveis				
	-2	-1	0	+1	+2
Salinidade ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaCl)	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
Volume de amostra (mL)	5	7,5	10	12,5	15
Tempo de incubação (min)	5	10	15	20	25
Temperatura de extração ( $^{\circ}\text{C}$ )	50	60	70	80	90

### 3.2.2.2 Condições cromatográficas

Após a extração, cujas condições otimizadas estão apresentadas na Tabela 3.2, 0,3 mL do *headspace* da amostra foi injetado no modo *splitless*, em que o divisor (*splitter*) foi aberto após 1 min. Em seguida, a separação cromatográfica foi realizada em uma coluna capilar OV-5 (5% difenil 95% dimetilpolisiloxano; 30 m; 0,25 mm D.I.; espessura de filme de 0,25  $\mu\text{m}$ ) (Ohio Valley Specialty Company, EUA).

Hidrogênio foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de 3,0 mL·min<sup>-1</sup>, enquanto nitrogênio foi utilizado como gás *make-up*, ambos adquiridos da White Martins, Brasil. As temperaturas do injetor, do forno (programa de temperatura) e dos detectores, e os fluxos dos gases utilizados pelos detectores são mostrados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Condições de extração por *headspace* e cromatográficas utilizadas para a detecção de BTEX.

Parâmetros	HS	PID	FID
Temperatura de extração (°C)	70	-	-
Tempo de incubação (min) <sup>a</sup>	15	-	-
Temperatura da seringa (°C)	110	-	-
Temperatura do injetor (°C)	-	250	
Temperatura do detector (°C)	-	240 <sup>b</sup>	250
Programa de temperatura (forno)	35 °C (7 min); 35-120 °C a 35 °C·min <sup>-1</sup> ; 120 °C (2,14 min)		
Gás <i>sheath</i> (N <sub>2</sub> ) (mL·min <sup>-1</sup> )	-	40	-
Gás <i>make-up</i> (N <sub>2</sub> ) (mL·min <sup>-1</sup> )	-	7	30
Ar sintético (chama) (mL·min <sup>-1</sup> )	-	-	350
Hidrogênio (chama) (mL·min <sup>-1</sup> )	-	-	35

HS, *headspace*; PID, *photoionization detector* (detector por fotoionização); FID, *flame ionization detector* (detector por ionização de chama).

<sup>a</sup>Agitação por 10 s a cada 20 s, continuamente.

<sup>b</sup>Lâmpada de 10,6 eV.

### 3.2.3 Validação do método HS-GC-PID para determinação de BTEX

A validação do método analítico foi realizada em termos de seletividade, linearidade, precisão, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

A seletividade foi determinada pela análise de uma amostra de água de uma torre de destilação a vácuo da LUBNOR (Lubrificantes e Derivados de Petróleo do Nordeste), uma refinaria de petróleo da Petrobras (Fortaleza, Ceará, Brasil). A amostra foi coletada em frasco de vidro, o qual foi completamente preenchido para evitar formação de *headspace*, armazenado a 4 °C no escuro para evitar a volatilização dos compostos, e, em seguida, transportado para o laboratório, onde a análise cromatográfica foi realizada imediatamente.

A linearidade foi avaliada, para cada um dos compostos BTEX, pelo coeficiente de correlação (R) das curvas de calibração, as quais foram obtidas, pelo método do padrão interno, a partir das áreas dos picos correspondentes a dez concentrações diferentes de BTEX (0,5; 2,5; 5; 10; 25; 50; 100; 250; 500 e 1000 µg·L<sup>-1</sup>).

A precisão foi determinada a partir da repetibilidade do método pelo desvio padrão relativo (DPR) das áreas dos picos e dos tempos de retenção de cada analito, calculado a partir dos resultados da análise de dez replicatas de uma solução padrão de BTEX contendo  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de cada composto.

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram determinados de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003) utilizando as seguintes equações:

$$\text{LD} = \frac{3 \cdot \sigma}{S} \quad (3.1)$$

e

$$\text{LQ} = \frac{10 \cdot \sigma}{S}, \quad (3.2)$$

em que  $\sigma$  é o desvio padrão calculado a partir dos resultados obtidos da análise de dez replicatas do ponto (concentração) mais baixo da curva de calibração, e  $S$  é a inclinação da curva de calibração (ANVISA, 2003).

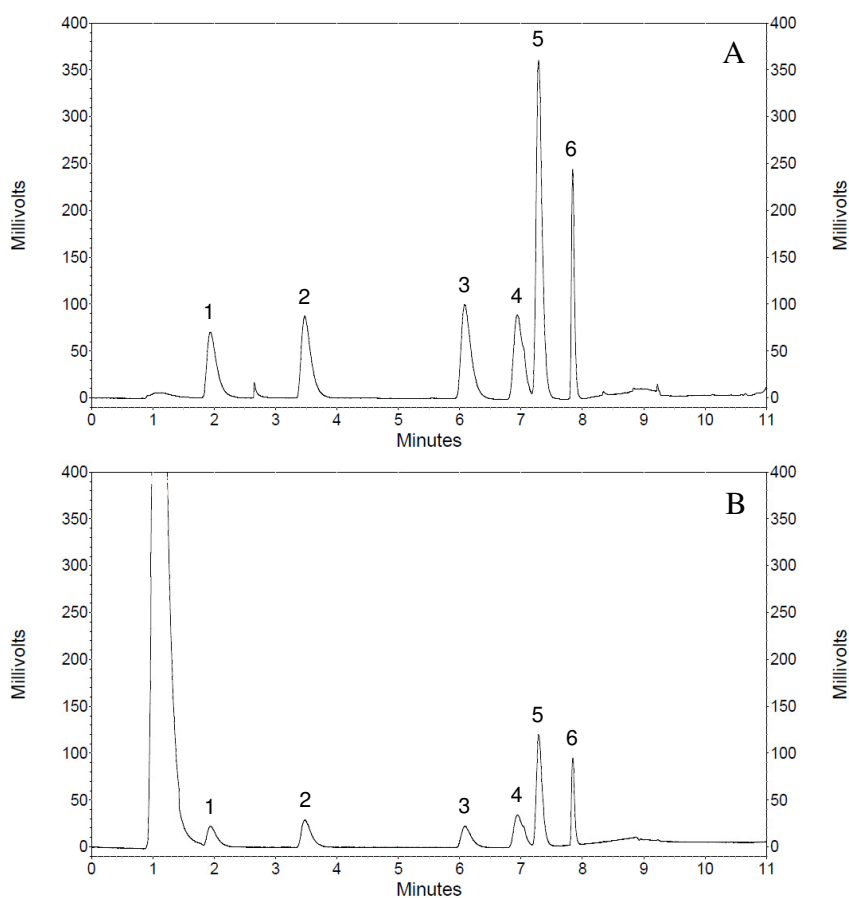
### 3.3 Resultados e discussão

Antes dos ensaios de otimização dos parâmetros de extração por *headspace*, algumas condições cromatográficas, como as temperaturas do injetor, do forno (programa de temperatura) e do detector, e o fluxo do gás de arraste, foram estabelecidas a fim de obter picos cromatográficos com alta resolução no menor tempo, sem interferência de outros compostos que pudessem estar presentes na amostra analisada. Contudo, o m-xileno e o p-xileno foram identificados e quantificados juntos, já que co-eluíram (Figura 3.1).

A otimização e a validação do método analítico foram realizadas apenas para o PID (Figura 3.1a), já que esse detector mostrou uma maior sensibilidade na determinação de BTEX do que o FID (Fig. 3.1b), assim como os seus picos apresentaram uma maior resolução na faixa de concentração testada conforme observado em estudos anteriores (CAVALCANTE *et al.*, 2010; GOBATO; LANÇAS, 2001).



Figura 3.1 – Cromatogramas de uma solução padrão de BTEX ( $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de cada composto) obtidos pelo PID (a) e pelo FID (b).



1, benzeno; 2, tolueno; 3, clorobenzeno (padrão interno); 4, etilbenzeno; 5, m,p-xilenos; 6, o-xileno.

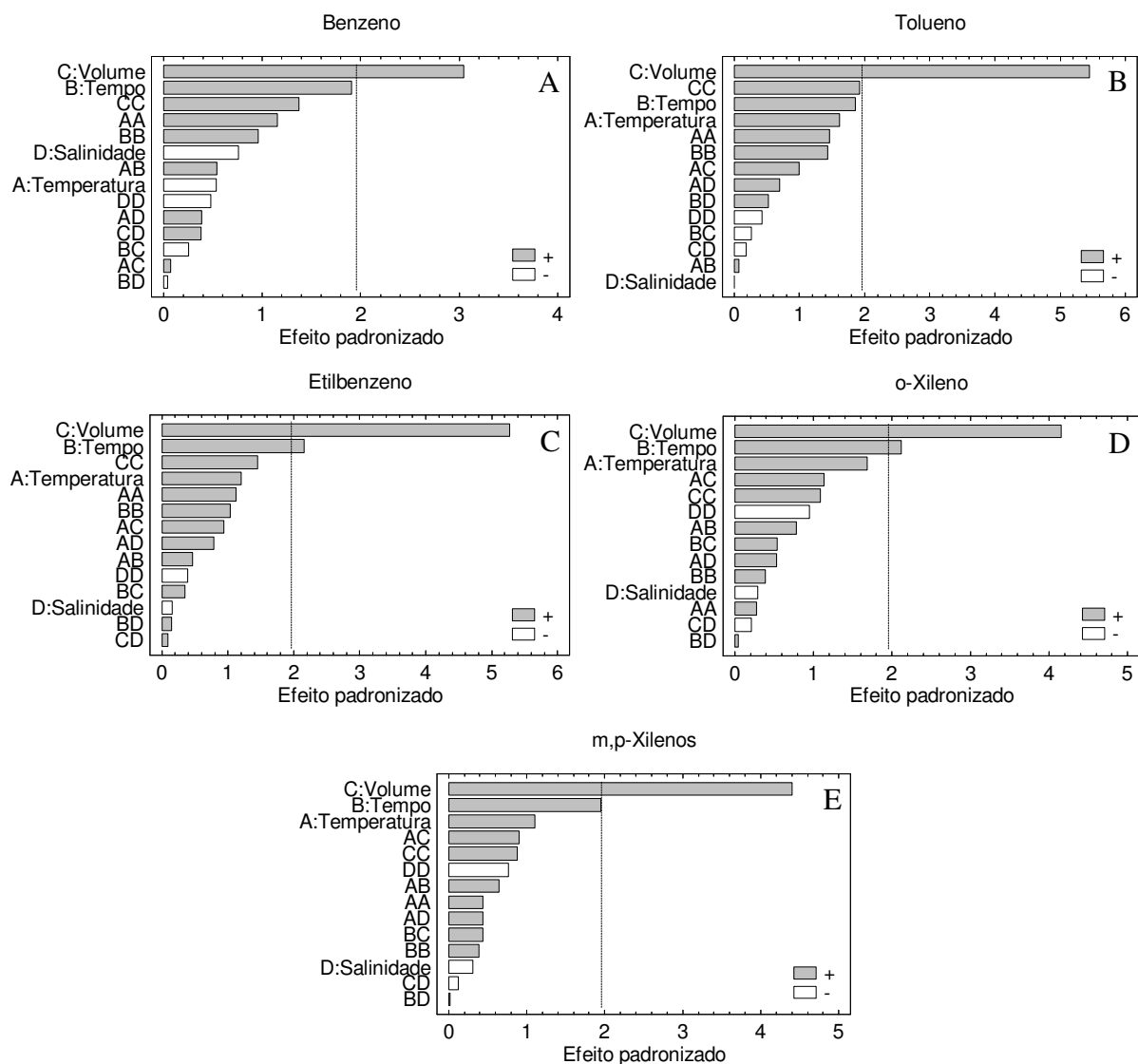
### 3.3.1 Otimização multivariada da extração de BTEX

Os gráficos de Pareto obtidos para cada composto BTEX, em um nível de confiança de 95%, revelaram que o efeito da salinidade não foi significativo em todos os casos (Figura 3.2). Assim, o método de extração proposto pode ser utilizado para a detecção desses compostos em diferentes amostras de água e efluente, já que a determinação de BTEX não dependeu da salinidade.

Além disso, os gráficos mostram que, para todos os BTEX, a extração por HS foi mais influenciada pelo volume da amostra, cujo valor ótimo foi de 15 mL. De fato, foi o único fator significativo para a maioria dos compostos estudados (Figuras 3.2a, b, e). Por outro lado, para os compostos etilbenzeno e o-xileno, o tempo de incubação também foi bastante significativo (Figuras 3.2c, d), já que, provavelmente, devido ao seu elevado ponto de

ebulição, esses compostos necessitaram de um tempo mais longo para que as fases (aquosa e gasosa) atingissem o equilíbrio às temperaturas avaliadas.

Figura 3.2 – Gráficos de Pareto do planejamento fatorial completo para os compostos benzeno (a), tolueno (b), etilbenzeno (c), o-xileno (d) e m,p-xilenos (e).



Embora a temperatura não tenha sido um fator significativo, valores mais elevados favoreceram o processo de extração para quase todos os compostos estudados, exceto para o benzeno (Figura 3.2a), o que permitiu melhores respostas (isto é, maiores áreas de pico) serem obtidas. Esses resultados estão de acordo com Heleno *et al.* (2010), os quais mostraram a viabilidade da extração de BTEX de águas por HS estático seguido de análise por GC-FID, cuja temperatura ideal foi de 80 °C.

Segundo Slater *et al.* (1999), a temperatura de extração é um parâmetro importante para a sensibilidade analítica de compostos voláteis, pois o seu aumento reduz a solubilidade de compostos e, portanto, favorece a transferência do analito da fase aquosa para a gasosa. Entretanto, temperaturas muito elevadas ( $> 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) possibilitam a formação de vapor de água no *headspace* da amostra, o que pode levar a uma redução significativa dos analitos de interesse (CAVALCANTE *et al.*, 2010). Além disso, existe a possibilidade de ruptura da seringa durante a amostragem, já que a pressão dentro do *vial* é aumentada quando submetido a altas temperaturas (MENÉNDEZ *et al.*, 2000; SERRANO; GALLEGO, 2004). Portanto, conforme recomendado por Cavalcante *et al.* (2010), a temperatura da extração foi limitada a  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Após o procedimento de otimização multivariada dos dados, verificou-se que o volume da amostra foi o fator de maior impacto sobre o sinal (área de pico) dos analitos, sendo a resposta máxima atingida – para temperatura de  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  e tempo de incubação de 15 min – quando o volume de amostra foi de 15 mL (Figura 3.3). Mais uma vez, verificou-se que a influência da salinidade foi claramente desprezível (Figura 3.3). Logo, decidiu-se mantê-la zero.

Em relação ao tempo de incubação, pode-se observar que, para volume de amostra de 15 mL e salinidade nula, a uma temperatura de extração de  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a resposta máxima (o valor ótimo) só foi alcançada após aproximadamente 23 min (Figura 3.4). No entanto, uma resposta de quase 0,90 (ou seja, 90% da resposta máxima) pôde ser obtida em um tempo de incubação de 15 min (Figura 3.4), o que permitiu, portanto, a análise ser realizada em um tempo total menor sem reduzir consideravelmente sua sensibilidade.

Figura 3.3 – Superfície de resposta (a) e suas respectivas curvas de nível (b) para a otimização multivariada da extração de BTEX: volume amostra contra salinidade. A temperatura foi fixada a 70 °C, e o tempo de incubação, em 15 min.

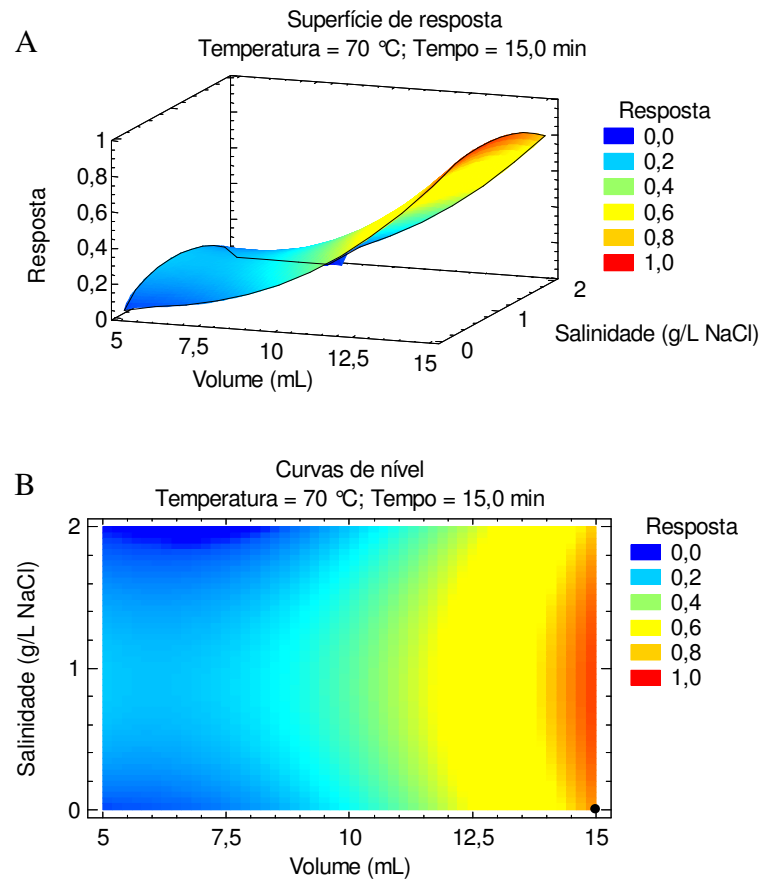
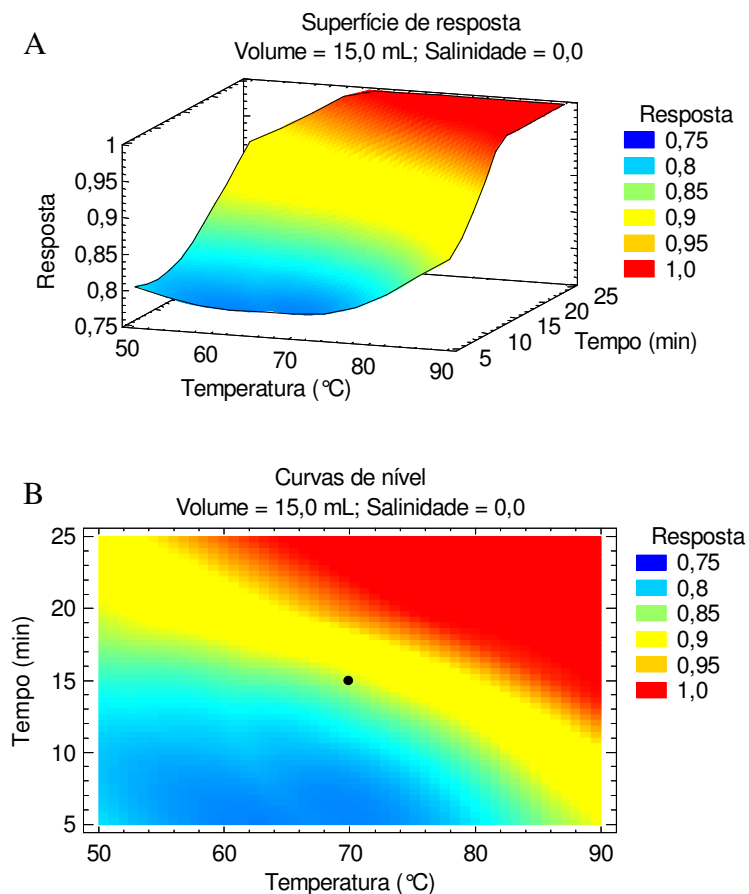


Figura 3.4 – Superfície de resposta (a) e suas respectivas curvas de nível (b) para a otimização multivariada da extração de BTEX: temperatura contra tempo de incubação. O volume de amostra foi fixado em 15 mL, e a salinidade, a  $0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .



### 3.3.2 Validação do método HS-GC-PID

Para assegurar sua confiabilidade, o método analítico foi submetido a validação, em que alguns parâmetros, como seletividade, linearidade, precisão e limites de detecção e quantificação, foram determinados.

O método foi muito seletivo, pois os cromatogramas obtidos a partir da análise da amostra da refinaria de petróleo LUBNOR da Petrobras mostraram que apenas os analitos de interesse (compostos BTEX) eluíram em seus respectivos tempos de retenção. A curva de calibração de cada composto foi obtida a partir da relação entre as concentrações estudadas e as suas áreas de pico correspondentes. Para todos os compostos, o coeficiente de correlação (R) foi superior a 0,999 (Tabela 3.3), o que indicou que o método tinha uma boa linearidade.

A repetibilidade do método variou de 0,05 a 0,26% para o tempo de retenção (análise qualitativa) e de 1,46 a 3,76% para a área de pico (análise quantitativa) (Tabela 3.3),

mostrando, então, excelente precisão, já que nenhum analito apresentou um DPR acima do limite superior de 5% (ANVISA, 2003). A repetibilidade obtida neste estudo é melhor do que as obtidas por Cavalcante *et al.* (2010), os quais utilizaram o mesmo equipamento e a mesma tecnologia de extração, e por outros métodos de determinação de BTEX relatados na literatura (Tabela 3.4).

O LD e o LQ alcançados para cada composto BTEX variaram de 0,13 a 0,43  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e de 0,43 a 1,61  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (Tabela 3.3), respectivamente, e foram menores do que os encontrados por outros estudos (AEPPLI *et al.*, 2008; KUBINEC *et al.*, 2005), inclusive quando se utilizou a técnica de extração por HS (CAVALCANTE *et al.*, 2010; MENÉNDEZ *et al.*, 2000) (Tabela 3.4). Esse fato confirma a elevada sensibilidade do detector (PID) para tais compostos aromáticos.

Ademais, os valores de LD e LQ foram menores do que as concentrações máximas de BTEX permitidas em água potável ou para o lançamento de águas residuárias, estabelecidas por legislações ambientais brasileiras e americana e também pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (Tabela 3.5). Portanto, o método HS-GC-PID pode ser eficientemente utilizado para a determinação e o monitoramento de BTEX em diferentes tipos de água e efluente.

Tabela 3.3 – Parâmetros analíticos avaliados na validação do método HS-GC-PID para determinação de BTEX.

Analitos	Linearidade			LD ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	LQ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Repetibilidade <sup>a</sup>	
	Equação de regressão	Faixa de calibração ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Coefficiente de correlação (R)			t <sub>R</sub> (%)	Área de pico (%)
Benzeno	y= 0,0061x + 0,0301	0,5-1000	0,9997	0,43	1,44	0,26	3,76
Tolueno	y= 0,0114x + 0,0136	0,5-1000	0,9999	0,48	1,61	0,20	3,17
Etilbenzeno	y= 0,0113x + 0,0214	0,5-1000	0,9999	0,13	0,43	0,19	1,69
m,p-Xileno	y= 0,0130x + 0,0567	0,5-1000	0,9999	0,41	1,37	0,09	1,46
o-Xileno	y= 0,0098x + 0,0268	0,5-1000	0,9999	0,20	0,66	0,05	1,46

LD, limite de detecção; LQ, limite de quantificação; t<sub>R</sub>, tempo de retenção.

<sup>a</sup>Desvio padrão relativo (DPR) dos tempos de retenção e áreas de pico (n = 10).

Tabela 3.4 – Parâmetros de validação de outros métodos de determinação de BTEX (continua).

Técnica/detecção	Linearidade ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	LD ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	LQ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	DPR (%)	Referência
HS/GC-FID	10-8000	1,0-2,0	-	4,0-5,0	Menéndez <i>et al.</i> (2000)
SPME/GC-FID	2-2000	0,2-1,0	-	4,0-8,0	Menéndez <i>et al.</i> (2000)
HS-SPME/GC-FID	0,8-2000	0,08-0,6	-	3,0-7,0	Menéndez <i>et al.</i> (2000)
P&T/GC-MS	0,5-10	0,05	-	-	Golfinopoulos, Lekkas e Nikolaou (2001)
HS/GC-MS	0,5-10	0,2-0,05	-	-	Golfinopoulos, Lekkas e Nikolaou (2001)
P&T/GC-MS	6,5-4000	0,003-0,03	-	1,0-8,9	Bianchin <i>et al.</i> (2012)
DAI/GC-FID	5-500	0,6-1,1	2,0-3,6	-	Kubinec <i>et al.</i> (2005)
HS-SPDE/CG-MS	0,013-15	0,013	-	3,2	Jochmann, Yuan e Schmidt (2007)
HS-PVT/CG-MS	0-35	0,6-2,0	2,0-5,0	5,5-12	Pavón <i>et al.</i> (2007)
HS/CG-MS	0,01-5	0,10-0,81	-	-	Ridgway, Lalljie e Smith (2007)
DAI/GC-FID	5-520	0,24-2,1	-	5,6-21	Aeppli <i>et al.</i> (2008)
SPME/GC-FID	2-100	0,05-0,28	0,14-0,84	0,86-2,07	Gaujac <i>et al.</i> (2008)

Tabela 3.4 – Parâmetros de validação de outros métodos de determinação de BTEX (conclusão).

Técnica/detecção	Linearidade ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	LD ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	LQ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	DPR (%)	Referência
HS/GC-PID	0,1-250	0,22-7,48	-	5,62-8,19	Cavalcante <i>et al.</i> (2010)
HS/GC-FID	-	0,09-0,70	0,29-2,34	8,89-13,39	Heleno <i>et al.</i> (2010)
HS-SPME/GC-MS	-	0,024-0,31	0,08-1,03	2,28-4,70	Heleno <i>et al.</i> (2010)
HF-SPME/GC-FID	0,001-0,02	0,005-0,006	-	3,4-4,5	Es'haghi, Ebrahimi e Hosseini (2011)
HS/GC-PID	0,5-1000	0,13-0,48	0,43-1,61	1,46-3,76	Este estudo

LD, limite de detecção; LQ, limite de quantificação; DPR, desvio padrão relativo; HS, *headspace*; SPME, *solid-phase micro-extraction* (microextração em fase sólida); P&T, *purge and trap*; DAI, *direct aqueous injection* (injeção direta aquosa); SPDE, *solid-phase dynamic extraction* (extração dinâmica em fase sólida); PVT, *programmed temperature vaporization* (vaporização a temperatura programada); HF, *hollow fiber* (fibra oca); CG, *gas chromatography* (cromatografia gasosa); MS, *mass spectrometry* (espectrometria de massa); FID, *flame ionization detector* (detector por ionização de chama); PID, *photoionization detector* (detector por fotoionização).

Tabela 3.5 – Concentrações máximas de BTEX permitidas em água potável e para o lançamento de águas residuárias, estabelecidas por legislações ambientais brasileiras e americana e pela Organização Mundial de Saúde.

Referência	Benzeno ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Tolueno ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Etilbenzeno ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Xilenos ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
MS (2011) <sup>a</sup>	5	170	200	300
CONAMA (2008) <sup>b</sup>	5*	170	200	300
CONAMA (2011) <sup>c</sup>	1200	1200	840	1600
USEPA (2012b) <sup>a</sup>	5	1000	700	10000
WHO (2011) <sup>a</sup>	10	700	300	500

MS, Ministério da Saúde; CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente; USEPA, *United States Environmental Protection Agency* (Agência de Proteção Ambiental Americana); WHO, *World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde).

<sup>a</sup>Água potável.

<sup>b</sup>Água subterrânea (potável).

<sup>c</sup>Lançamento de água residuária.

\*Para uso recreativo, a concentração máxima é  $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para o benzeno.



### 3.4 Conclusões

A técnica de planejamento experimental multivariado permitiu a otimização das condições analíticas de extração por HS seguido de análise por GC-PID para a determinação de BTEX em diferentes amostras aquosas, como águas subterrâneas, superficiais e residuárias.

O volume da amostra foi o parâmetro mais relevante para a determinação de BTEX, enquanto a salinidade não influenciou significativamente o processo. Assim, o método analítico proposto pode ser aplicado a diferentes amostras de água, pois a determinação de BTEX não dependeu da salinidade.

O método cromatográfico apresentou excelente seletividade, linearidade e precisão na determinação de BTEX. Foi também altamente sensível a esses compostos, já que alcançou limites de detecção e de quantificação muito baixos, os quais foram menores do que as concentrações máximas de BTEX permitidas em água potável ou para o lançamento de águas residuárias, estabelecidas por legislações ambientais brasileiras e americana e também pela Organização Mundial de Saúde.



## 4 TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUAS SINTÉTICAS CONTAMINADAS COM BTEX EM REATOR METANOGÊNICO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES OPERACIONAIS

### 4.1 Introdução

Hidrocarbonetos monoaromáticos, tais como benzeno, tolueno, etilbenzeno e os isômeros do xileno (BTEX), são importantes constituintes do petróleo bruto e de seus derivados (WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010). De fato, esses compostos podem corresponder a até aproximadamente 18%, em massa, de uma mistura padrão de gasolina (JO *et al.*, 2008a). Portanto, a partir do vazamento acidental de tubulações e tanques de armazenamento subterrâneos de combustíveis fósseis, os BTEX – os quais possuem solubilidade e mobilidade em água relativamente alta – podem contaminar extensivamente solos e aquíferos subterrâneos, comprometendo fontes de água potável (DOU; LIU; HU, 2008; DOU *et al.*, 2008) e representando, assim, um sério problema ambiental e de saúde pública devido à elevada toxicidade e ao potencial carcinogênico desses compostos (FOGHT, 2008; JO *et al.*, 2008a; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010).

Além disso, no Brasil, etanol é adicionado à gasolina (20-25%, em volume) de forma a atenuar as emissões atmosféricas automotivas prejudiciais. Entretanto, isso pode agravar o problema de contaminação de aquíferos subterrâneos, já que o etanol pode exercer um efeito de co-solvência, aumentando a solubilidade em água dos BTEX e, conseqüentemente, resultando em concentrações mais elevadas (CORSEUIL *et al.*, 2011).

Entre as várias tecnologias de remediação, *in situ* ou *ex situ*, disponíveis para o tratamento de águas contaminadas com BTEX, os processos biológicos (ou biorremediação), especialmente os anaeróbios, têm se destacado por serem econômicos, eficientes e ambientalmente corretos. De fato, a biorremediação *ex situ* por meio de reatores anaeróbios tem sido utilizada com sucesso no tratamento de águas contaminadas com poluentes químicos ou orgânicos, incluindo os BTEX. Entretanto, alguns parâmetros operacionais, tais como tempo de detenção hidráulica, concentração afluyente de poluentes, carga orgânica volumétrica, recirculação de efluente e outros, podem influenciar no desempenho de degradação desses compostos (FARHADIAN *et al.*, 2008).

Por exemplo, a literatura reporta que a recirculação de efluente tem um impacto positivo na capacidade de remoção de fenóis, compostos semelhantes aos BTEX em termos de aromaticidade, já que, além de melhorar a transferência de massa (contato entre substrato e

microbiota), favorece a diluição do afluente no início do reator, mantendo, assim, a concentração de compostos inibitórios dentro de uma faixa adequada (VEERESH; KUMAR; MEHROTRA, 2005).

Outro fator importante é a presença de etanol em águas contaminadas com BTEX a partir de vazamentos de tanques de gasolina. Estudos mostram que esse composto é preferencialmente degradado em relação aos BTEX sob diversas condições redox (aeróbia, desnitrificante, sulfetogênica e metanogênica), dificultando, assim, o seu processo de degradação (CHEN; BARKER; GUI, 2008; CORSEUIL *et al.*, 1998; CORSEUIL *et al.*, 2011; DA SILVA; RUIZ-AGUILAR; ALVAREZ, 2005). Além disso, acetato e hidrogênio – possíveis intermediários da degradação sintrófica de BTEX – podem ser produzidos a partir da digestão anaeróbia de etanol. Logo, a degradação de elevadas concentrações desse co-substrato pode resultar em um acúmulo transiente de acetato e hidrogênio, o que, provavelmente, inibiria a degradação sintrófica de BTEX, já que o processo passaria a ser energeticamente desfavorável (EDWARDS; GRBIĆ-GALIĆ, 1994; RAKOCZY *et al.*, 2011).

Assim, o presente estudo avaliou a influência do tempo de detenção hidráulica, da recirculação de efluente e da redução da concentração de co-substrato (etanol) no desempenho de remoção anaeróbia de BTEX em reator metanogênico.

## 4.2 Material e métodos

### 4.2.1 Sistema experimental

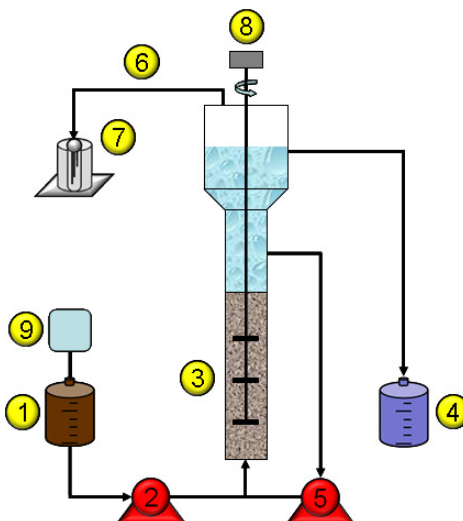
O experimento em fluxo contínuo foi realizado em um reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB, *up-flow anaerobic sludge blanket*), em escala laboratorial (volume útil de 3,3 L), feito a partir de tubos e conexões de PVC para esgoto (Figura 4.1). O reator foi inoculado com lodo anaeróbio ( $\sim 50 \text{ g SSV} \cdot \text{L}^{-1}$ ) de um reator de circulação interna (IC, *internal circulation*) mesofílico de uma cervejaria (Horizonte, Ceará, Brasil), cuja atividade metanogênica específica (AME) foi  $0,63 \text{ g DQO (glicose)} \cdot \text{g SSV}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ .

A fim de evitar a formação de caminhos preferenciais ou curtos-circuitos através da manta de lodo e facilitar a liberação do biogás, evitando o efeito pistão (elevação da manta de lodo causada pelo biogás aprisionado), um homogeneizador (5 rpm) foi instalado no reator (LEITÃO, 2004).

O afluente era armazenado a aproximadamente  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  em um recipiente de PVC (volume total de 7 L) provido de uma atmosfera de  $\text{N}_2$  (100%, White Martins, Brasil), a partir

de uma bolsa de Tedlar® para amostragem de gás (Supelco, EUA), a fim de evitar a volatilização de BTEX dentro do recipiente e minimizar o contato do afluente com o O<sub>2</sub> do ar.

Figura 4.1 – Configuração do sistema experimental utilizado na remoção de BTEX sob condições anaeróbias metanogênicas.



1, afluente; 2, bomba peristáltica (alimentação); 3, reator UASB; 4, efluente; 5, bomba dosadora (recirculação); 6, biogás; 7, medidor de gás; 8, homogeneizador; 9, bolsa de Tedlar® (N<sub>2</sub>).

O reator era alimentado por meio de bomba peristáltica (Minipuls 3, Gilson, EUA) através de tubos flexíveis de Tygon® *Fuel and Lubricant* (Cole-Parmer, EUA) – material inerte aos compostos aromáticos testados – e operado à temperatura ambiente de aproximadamente 27 °C. Em algumas etapas experimentais, usou-se recirculação de efluente por meio de bomba dosadora (Concept Plus, ProMinent Dosiertechnik GmbH, Alemanha). O biogás produzido era coletado e medido por um medidor de gás previamente calibrado (método de deslocamento de líquido).

#### 4.2.2 Água contaminada sintética

A água contaminada sintética consistia de uma solução aquosa contendo BTEX, ou seja, benzeno (99,5%, Dinâmica Química, Brasil), tolueno (99,5%, Vetec, Brasil), etilbenzeno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA), o-xileno (98,0%, Fluka, EUA), m-xileno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA) e p-xileno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA), um co-substrato, meio basal (macro e micronutrientes) e um tampão. O co-substrato era o etanol (99,8%, Dinâmica, Brasil), e o meio basal era preparado de acordo com Firmino *et al.* (2010). Para manter o pH próximo a 7,0, a solução era tamponada com bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) na proporção de

1 g de  $\text{NaHCO}_3$  para cada 1 g DQO. Todos os reagentes foram utilizados como adquiridos, sem purificação adicional.

#### 4.2.3 Procedimento experimental

O experimento com água contaminada com BTEX foi dividido em sete etapas (Tabela 4.1), incluindo a partida do reator (período de aclimatação) (etapa I), durante a qual o etanol era a única fonte de carbono e energia. Após atingir condições operacionais estáveis durante o período de partida, o reator passou a ser alimentado com BTEX a uma concentração total média de aproximadamente  $18 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $\sim 3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cada composto) (etapa II). Posteriormente, o tempo de detenção hidráulica (TDH) do reator foi reduzido de 48 para 36 h (etapa III) e, em seguida, para 24 h (etapa IV) a fim de avaliar o impacto dessa diminuição no desempenho do reator.

Tabela 4.1 – Parâmetros operacionais do reator sob condições anaeróbias metanogênicas.

<b>Etapa</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>	<b>VII</b>
Fim da etapa (dia)	49	201	251	282	308	343	363
TDH (h)	48	48	36	24	48	48	48
DQO total ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	1,8	1,6	1,6	1,7	1,6	0,3	0,3
Etanol ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	0,85	0,72	0,76	0,77	0,76	0,11	0,10
BTEX ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	-	18,0	17,0	14,6	16,1	19,5	19,1
Benzeno ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	-	3,4	2,9	2,6	2,6	3,0	2,8
Tolueno ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	-	2,9	2,7	2,4	2,5	3,3	3,3
Etilbenzeno ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	-	3,0	3,0	2,5	2,8	3,5	3,5
o-Xileno ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	-	2,9	2,5	2,2	2,4	3,0	3,1
m,p-Xilenos <sup>a</sup> ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	-	5,9	5,9	5,0	5,7	6,8	6,5
Recirculação ( $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ )	-	-	-	-	0,7	0,7	-

TDH, tempo de detenção hidráulica; DQO, demanda química de oxigênio.

<sup>a</sup>Os isômeros meta- e para-xilenos foram quantificados juntos devido à limitação do método cromatográfico.

Na etapa V, o TDH foi restabelecido para 48 h, e uma vazão de recirculação de efluente de  $0,7 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$  foi aplicada ao sistema para averiguar seu efeito na transferência de massa (contato substrato-microrganismo) e, logo, na remoção anaeróbia de BTEX. Em seguida, na etapa VI, a fim de investigar o efeito da carga do co-substrato na remoção anaeróbia dos hidrocarbonetos aromáticos, a recirculação de efluente foi mantida, enquanto a concentração de etanol foi reduzida para aproximadamente  $0,3 \text{ g DQO}\cdot\text{L}^{-1}$ . Finalmente, na

etapa VII, o sistema de recirculação foi desligado de forma a confirmar seu impacto no desempenho do reator quando submetido a baixa carga de co-substrato. A transição entre as diversas etapas foi feita após a verificação da estabilidade (variação de até 10%) da concentração efluente de BTEX nos três últimos pontos analisados (equivalente a uma semana de operação).

#### **4.2.4 Análises químicas e cromatográficas**

DQO e pH eram determinados de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005), enquanto os ácidos graxos voláteis (AGV), pelo método titulométrico de Kapp (BUCHAUER, 1998).

Os compostos BTEX eram determinados por extração por *headspace* estático (Triplus HS, Thermo Scientific, USA) seguido de cromatografia gasosa com detecção por fotoionização (HS-GC-PID, *headspace-gas chromatography-photoionization detection*) (Trace GC Ultra, Thermo Scientific, USA) conforme descrito no capítulo 3 (seção 3.2.2.2). Todas as amostras (15 mL) eram previamente diluídas com água ultrapura (Milli-Q system, EMD Millipore, USA) diretamente em *vials* de vidro borossilicato para *headspace* (20 mL) (Supelco, EUA), os quais eram, em seguida, selados com septos de PTFE/silicone e lacres de alumínio (Supelco, EUA).

A caracterização de biogás foi realizada, em termos de ar ( $O_2 + N_2$ ),  $CO_2$  e  $CH_4$ , por cromatografia gasosa com detecção por condutividade térmica (GC-TCD, *gas chromatography-thermal conductivity detection*) (GC-17A, Shimadzu Corporation, Japão). A amostra de biogás (1,0 mL) era injetada no modo *splitless*, e a separação cromatográfica era realizada em uma coluna Rt-QPLOT (polímero poroso de divinilbenzeno, 30 m, 0,53 mm D.I.) (Restek Corporation, EUA). As temperaturas do forno, do injetor e do detector eram 40, 50 e 200 °C, respectivamente. Hélio (White Martins, Brasil) era utilizado como gás de arraste a um fluxo de  $0,7 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , e o tempo de corrida, 5 min.

#### **4.2.5 Métodos estatísticos**

O programa Statgraphics Centurion XV foi utilizado para a análise estatística dos dados, sendo aplicados os testes não-paramétricos de Mann-Whitney e de Kruskal-Wallis, os quais não requerem uma distribuição específica de dados, para comparar o desempenho do reator durante as diferentes etapas experimentais. Os resultados dos testes foram avaliados de

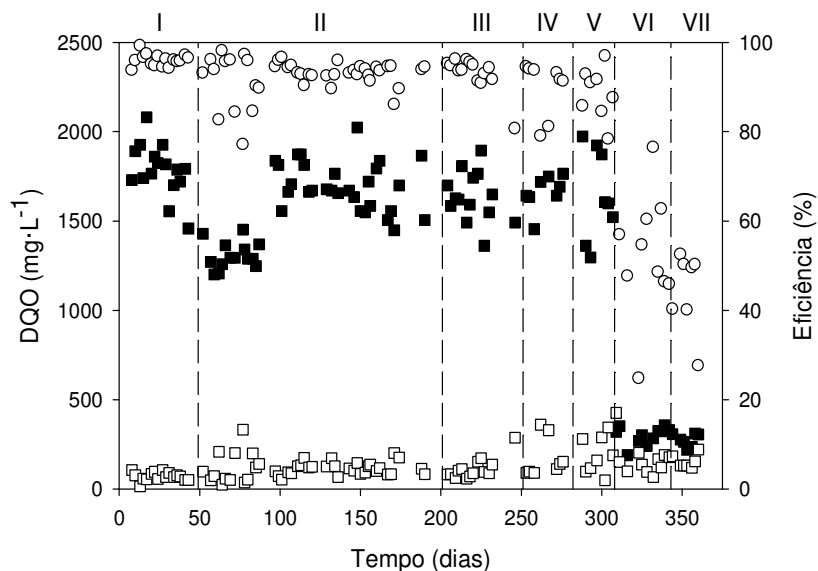
acordo com o valor de  $p$ . Se  $p \leq 0,050$ , a hipótese nula é rejeitada, ou seja, os grupos de dados são considerados estatisticamente diferentes.

### 4.3 Resultados e discussão

#### 4.3.1 Remoção de DQO e produção de metano

Inicialmente, durante sua partida, o reator foi alimentado com afluente livre de BTEX, ou seja, o etanol era a única fonte de carbono e de energia (etapa I). Apesar da elevada flutuação dos valores afluentes de DQO, o efluente apresentou excelente qualidade e estabilidade, proporcionando a obtenção de altas eficiências de remoção de DQO (~96%) (Figura 4.2). Conseqüentemente, a produção média de metano, nessa etapa, foi de 0,408 L por g de DQO removida ( $L \cdot g \text{ DQO}_{\text{rem}}^{-1}$ ) (Tabela 4.2), uma produção levemente superior à teórica esperada a 1 atm e 27 °C ( $0,385 L \cdot g \text{ DQO}_{\text{rem}}^{-1}$ ), confirmando o bom desempenho operacional do reator.

Figura 4.2 – DQO afluente e efluente e eficiência de remoção.



■, DQO afluente; □, DQO efluente; ○, eficiência de remoção.



Tabela 4.2 – Desempenho operacional do reator em termos de remoção de DQO e produção de metano.

<b>Etapa</b>		<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>	<b>VII</b>
<b>TDH (h)</b>		48	48	36	24	48	48	48
<b>Etanol (g·L<sup>-1</sup>)</b>		0,85	0,72	0,76	0,77	0,76	0,11	0,10
<b>Recirculação (L·h<sup>-1</sup>)</b>		-	-	-	-	0,7	0,7	-
<b>V<sub>asc</sub> (m·h<sup>-1</sup>)</b>		0,016	0,016	0,021	0,031	0,174	0,174	0,016
<b>pH</b>	Efluente	7,3 (0,2)	7,2 (0,2)	7,6 (0,6)	7,0 (0,6)	7,6 (0,2)	7,9 (0,2)	7,7 (0,1)
	Afluente (mg·L <sup>-1</sup> )	1786 (147)	1570 (219)	1634 (141)	1662 (98)	1644 (255)	300 (50)	275 (37)
<b>DQO</b>	Efluente (mg·L <sup>-1</sup> )	71 (24)	116 (57)	114 (60)	172 (110)	191 (105)	167 (96)	154 (37)
	TR (mg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	857 (75)	727 (111)	1013 (99)	1491 (96)	726 (111)	78 (24)	61 (14)
	Eficiência (%)	96,0 (1,4)	92,5 (4,2)	93,0 (3,9)	89,8 (6,1)	88,6 (5,8)	52,4 (13,5)	44,4 (8,9)
<b>CH<sub>4</sub></b>	(L·d <sup>-1</sup> )	1,25 (0,16)	0,91 (0,10)	1,26 (0,19)	1,49 (0,12)	0,86 (0,06)	-	-
	(L·g DQO <sub>rem</sub> <sup>-1</sup> )	0,408 (0,067)	0,374 (0,058)	0,398 (0,023)	0,374 (0,035)	0,461 (0,066)	-	-

TDH, tempo de detenção hidráulica; V<sub>asc</sub>, velocidade ascensional; DQO, demanda química de oxigênio; TR, taxa de remoção; DQO<sub>rem</sub>, demanda química de oxigênio removida.

O desvio padrão é exibido entre parênteses.

Em seguida, após a verificação da sua estabilidade operacional, o reator passou a ser alimentado com BTEX (etapa II), e observou-se, inicialmente, uma maior instabilidade tanto na eficiência de remoção quanto na concentração efluente de DQO (Figura 4.2). Após o dia 97 de operação, o reator apresentou uma melhor estabilidade operacional (Figura 4.2), o que seria, portanto, resultado de uma provável adaptação da microbiota aos compostos aromáticos. Mesmo assim, verificou-se uma queda de aproximadamente 3,5% na eficiência média de remoção de DQO ( $p < 0,001$ ) (Tabela 4.2).

É importante mencionar que a DQO afluente dessa etapa foi menor do que a da etapa I ( $p < 0,001$ ) (Figura 4.2), o que poderia justificar a redução da eficiência. Contudo, a DQO efluente da etapa II foi considerada estatisticamente maior do que a da etapa anterior ( $p = 0,002$ ) (Figura 4.2), ou seja, a qualidade do efluente, em termos de DQO, diminuiu após a introdução de BTEX. Com relação à produção de metano, embora se tenha observado uma redução de 8% do seu valor médio em relação ao da etapa I, não se verificou diferença estatística ( $p = 0,223$ ) (Tabela 4.2). Além disso, a produção média se manteve próxima ao valor teórico de  $0,385 \text{ L} \cdot \text{g DQO}_{\text{rem}}^{-1}$  a 1 atm e  $27 \text{ }^\circ\text{C}$ . Assim, aparentemente, embora a adição dos hidrocarbonetos aromáticos tenha causado um leve impacto negativo no desempenho de remoção de matéria orgânica, não comprometeu a operação do reator.

Na etapa III, o TDH do reator foi reduzido de 48 para 36 h, e, apesar da ampla variação da DQO afluente, o desempenho de remoção de DQO foi bastante estável (Figura 4.2), não sendo verificadas diferenças estatisticamente significativas entre as eficiências ( $p = 0,522$ ), as concentrações efluentes ( $p = 0,650$ ) e, inclusive, as produções de metano ( $p = 0,501$ ) das etapas II e III (Tabela 4.2).

Em seguida, quando o reator passou a ser operado com um TDH de 24 h (etapa IV), percebeu-se uma maior instabilidade no seu desempenho de remoção de DQO (Figura 4.2), o que levou a um aumento da DQO média efluente ( $\sim 1,5$  vez) e, logo, a uma diminuição de 3% na eficiência média (Tabela 4.2). Mesmo assim, os testes estatísticos não revelaram diferença significativa em relação aos dados obtidos na etapa III ( $p = 0,081$  para DQO efluente, e  $p = 0,113$  para eficiência de remoção). Adicionalmente, a produção de metano permaneceu semelhante à da etapa anterior ( $p = 0,194$ ) (Tabela 4.2).

Estando de acordo com os resultados apresentados, de Nardi *et al.* (2005), utilizando um RAHLF mesofílico ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) para o tratamento de água contaminada com gasolina ( $4 \text{ g DQO} \cdot \text{L}^{-1}$ ), não observaram diferença no desempenho de remoção de DQO do seu reator com a redução do TDH de 20 para 16 h.

Por outro lado, Ramakrishnan e Gupta (2008b), durante o tratamento de água residuária sintética contendo  $752 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de compostos fenólicos ( $2,24 \text{ g DQO}\cdot\text{L}^{-1}$ ), os quais são semelhantes aos BTEX em termos de aromaticidade, relataram que a eficiência de remoção de DQO de um reator anaeróbio híbrido mesofílico ( $27 \text{ }^\circ\text{C}$ ) diminuiu de 93 para 86,5% com o decréscimo do TDH de 36 para 24 h, enquanto a produção de metano aumentou de 0,331 para  $0,349 \text{ L}\cdot\text{g DQO}_{\text{adicionada}}^{-1}$ . Segundo os autores, a redução da bioatividade do sistema foi causada pelo aumento da carga de compostos fenólicos com a diminuição do TDH.

Na etapa V, o TDH foi restabelecido para 48 h, e uma vazão de recirculação de efluente de  $0,7 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$  (relação recirculação/alimentação de aproximadamente 10) foi aplicada ao reator. Em relação à etapa IV (TDH = 24 h), apesar da maior instabilidade do sistema (Figura 4.2), não se constataram diferenças significativas na eficiência de remoção de DQO ( $p = 0,400$ ) nem na qualidade do efluente ( $p = 0,599$ ). No entanto, a produção de metano foi aproximadamente 20% superior à da etapa IV ( $p = 0,023$ ) (Tabela 4.2).

Todavia, ao comparar o desempenho do reator para o mesmo TDH (etapas II e V), observou-se uma queda de 3,9% na eficiência média de remoção de DQO ( $p = 0,039$ ), enquanto a DQO média efluente foi 65% maior do que a da etapa sem recirculação (Tabela 4.2). Mesmo assim, os testes estatísticos não revelaram diferença significativa entre a qualidade do efluente de ambas as etapas ( $p = 0,068$ ). Quanto à produção de metano, esta foi quase 20% maior do que a teórica esperada a 1 atm e  $27 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $0,385 \text{ L}\cdot\text{g DQO}_{\text{rem}}^{-1}$ ), mas permaneceu estatisticamente similar à da etapa II ( $p = 0,058$ ) (Tabela 4.2).

O uso de recirculação de efluente pode favorecer uma distribuição mais homogênea e uniforme do substrato, reduzindo o gradiente de concentração ao longo do reator e proporcionando uma transferência de massa efetiva (contato entre substrato e microbiota), o que, conseqüentemente, poderia influenciar positivamente tanto a degradação de substrato quanto a produção de biogás (MOHAN *et al.*, 2007). Entretanto, dependendo da composição da água residuária e da configuração do sistema de tratamento, os resultados podem ser bem diferentes (BUZZINI *et al.*, 2006; BUZZINI; PIRES, 2007; DEL POZO; DIEZ; BELTRÁN, 2000; RAMAKRISHNAN; GUPTA, 2008a).

Ramakrishnan e Gupta (2008a), por exemplo, ao utilizarem um reator anaeróbio híbrido (TDH = 16 h) mesofílico ( $27 \text{ }^\circ\text{C}$ ) para o tratamento de água residuária sintética contendo  $752 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de compostos fenólicos ( $2,24 \text{ g DQO}\cdot\text{L}^{-1}$ ), observaram que, após a aplicação de uma relação recirculação/alimentação (R/A) de apenas 0,5, a eficiência de remoção de DQO aumentou de 85 para 88%, e a produção de metano, de 0,30 para  $0,32 \text{ L}\cdot\text{g}$

$DQO_{rem}^{-1}$ . Segundo os autores, a recirculação aumentou a velocidade ascensional e melhorou as condições de mistura do reator, resultando, portanto, em um melhor desempenho do sistema de tratamento.

Por outro lado, em experimentos com reator UASB mesofílico (30 °C), durante o tratamento licor negro diluído (1,4 g  $DQO \cdot L^{-1}$ ) oriundo de uma indústria de polpa Kraft, a introdução de um sistema de recirculação de efluente (relação R/A = 0,5) ocasionou uma redução da eficiência média de remoção de DQO de 80 para 75% (BUZZINI *et al.*, 2006; BUZZINI; PIRES, 2007).

del Pozo, Diez e Beltrán (2000), por sua vez, utilizando um reator anaeróbico de leito fixo, operado com fluxo descendente (TDH  $\approx$  5 h) e sob condições mesofílicas (35 °C), como pré-tratamento de efluente de abatedouro de aves ( $\sim$ 2,1 g  $DQO \cdot L^{-1}$ ), não constataram diferenças estatisticamente significativas na remoção de DQO quando o reator foi submetido a relações R/A variando entre 0 e 22.

Na etapa VI, a concentração de etanol foi diminuída de forma a obter uma DQO média afluente de aproximadamente 300  $mg \cdot L^{-1}$  (Tabela 4.2). A qualidade do efluente, em termos de DQO, permaneceu semelhante à da etapa anterior ( $p = 0,710$ ) (Tabela 4.2). Conseqüentemente, devido à menor DQO afluente nessa etapa ( $p < 0,001$ ), menores valores de eficiência de remoção foram alcançados em relação à etapa V ( $p < 0,001$ ) (Figura 4.2). Também se constatou uma maior instabilidade nos valores de eficiência, o que pode ser justificado pelas baixas concentrações de matéria orgânica (Figura 4.2). Portanto, qualquer variação mínima nos valores afluentes e efluentes de DQO pode representar uma ampla flutuação da eficiência de remoção. Adicionalmente, não foi possível registrar o volume de metano produzido a partir de uma DQO afluente tão baixa devido à limitação do sistema de medição utilizado.

Finalmente, na etapa VII, o reator continuou submetido a baixas concentrações de co-substrato, e o sistema de recirculação foi desligado. Embora a eficiência média de remoção de DQO tenha diminuído 8% (Tabela 4.2), não foram verificadas diferenças significativas entre os valores de eficiência ( $p = 0,268$ ) e de DQO efluente ( $p = 1,000$ ) das etapas VI e VII, e, aparentemente, o reator apresentou um desempenho levemente mais estável (Figura 4.2). Mais uma vez, a produção de metano não foi registrada pelos motivos supracitados.

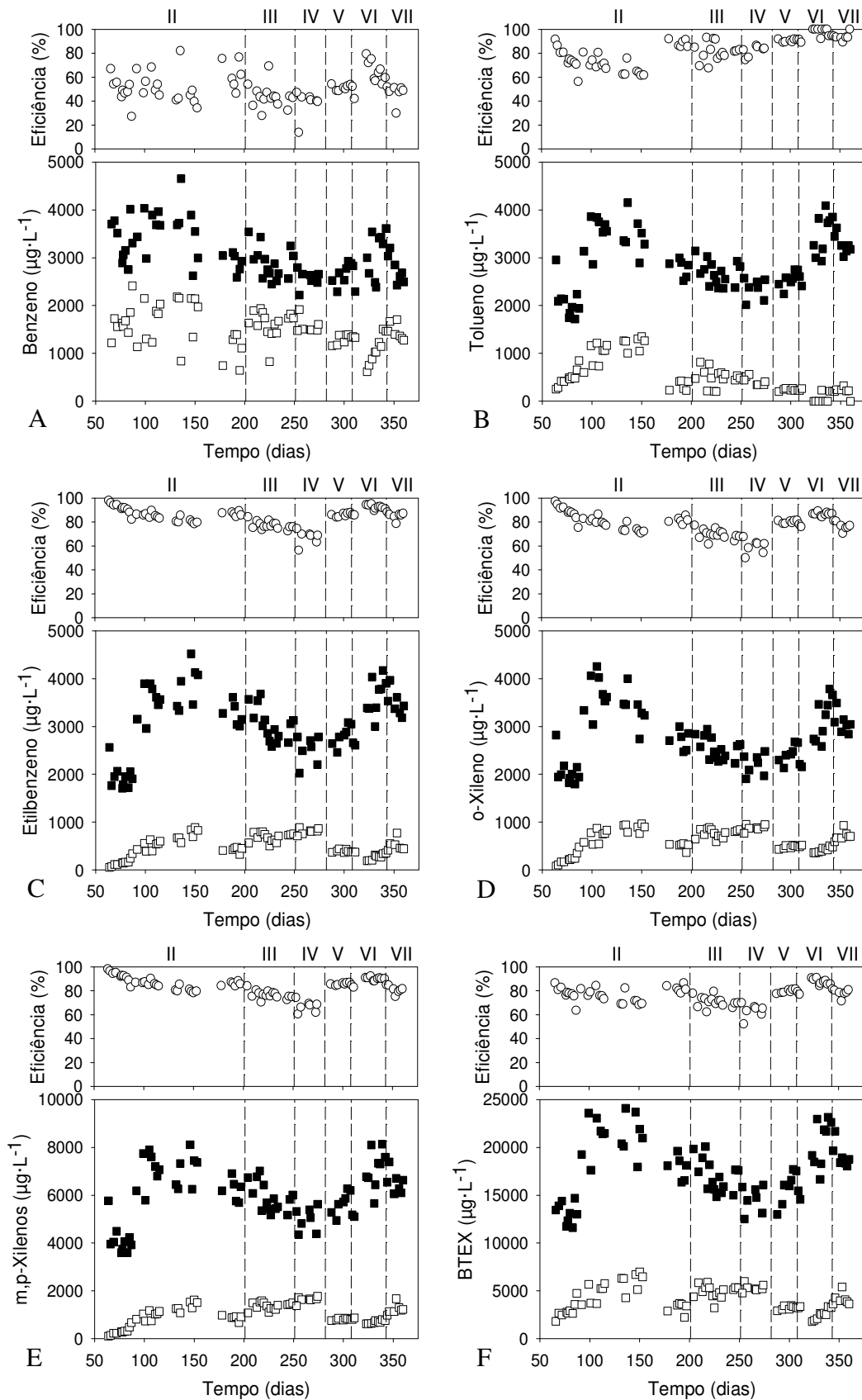
### 4.3.2 Remoção de BTEX

Verificada a sua estabilidade operacional durante o período de aclimação (etapa I), o reator passou a ser alimentado com BTEX (etapa II). Devido à alta volatilidade dos compostos BTEX, foi bastante difícil manter suas concentrações afluentes constantes durante todo o experimento. Especificamente durante a etapa II, exceto para o benzeno, as concentrações afluentes foram reajustadas após o dia 87 de operação de forma a garantir valores próximos a  $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Figura 4.3).

Para todos os compostos, com exceção do benzeno, maiores eficiências de remoção foram obtidas no início da etapa ( $> 70\%$  para o tolueno,  $> 85\%$  para o o-xileno e  $> 90\%$  para os demais compostos), as quais diminuíram ao longo do tempo (Figura 4.3). Também se observou uma tendência de aumento das concentrações efluentes dos mesmos compostos ao longo da etapa II, especialmente até o dia 100 de operação (Figura 4.3). Logo, é bastante provável que as eficiências mais elevadas, registradas no início do experimento, tenham sido alcançadas, em parte, devido à adsorção inicial dos compostos na manta de lodo. Ainda, ao fim da etapa, melhores eficiências de remoção e qualidade de efluente foram obtidas, notadamente para o tolueno (Figura 4.3), sugerindo, assim, uma maior adaptação da microbiota a esses hidrocarbonetos aromáticos.

Em termos de eficiência média de remoção, o maior valor foi obtido para os isômeros m- e p-xilenos e o etilbenzeno ( $\sim 87\%$ ), seguidos, em ordem decrescente, pelos compostos o-xileno, tolueno e, finalmente, benzeno (com apenas  $53\%$ ) (Tabela 4.3). Em contraste, de Nardi *et al.* (2005), utilizando um RAHLF mesofílico ( $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ) com TDH de apenas 11,4 h, para o tratamento de águas contaminadas com BTEX ( $\sim 3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cada composto) na presença de etanol, obtiveram eficiências médias de remoção para todos os compostos acima de  $80\%$ . Entretanto, assim como observado no presente estudo, os valores médios de eficiência de remoção de cada BTEX seguiram o mesmo padrão supracitado, ou seja, a maior eficiência média foi alcançada para os isômeros m- e p-xilenos ( $93\%$ ), enquanto o benzeno foi o composto mais recalcitrante ( $82\%$ ) (DE NARDI *et al.*, 2005). Ainda, Enright, Collins e O'Flaherty (2007), mesmo sob condições psicofílicas ( $15 \text{ }^\circ\text{C}$ ), conseguiram obter remoção completa de tolueno ( $6,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) em um reator anaeróbico híbrido (TDH = 24 h) durante o tratamento de água residuária sintética contendo uma mistura desse alquilbenzeno, etanol e AGV ( $5 \text{ g DQO}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

Figura 4.3 – Concentrações afluentes e efluentes e eficiências de remoção de benzeno (a), tolueno (b), etilbenzeno (c), o-xileno (d), m,p-xilenos (e) e BTEX (f).



■, Concentração afluente; □, concentração efluente; ○; eficiência de remoção.

Tabela 4.3 – Desempenho operacional do reator em termos de remoção dos compostos BTEX (continua).

<b>Etapa</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>	<b>VII</b>	
<b>TDH (h)</b>	48	36	24	48	48	48	
<b>Etanol (g·L<sup>-1</sup>)</b>	0,72	0,76	0,77	0,76	0,11	0,10	
<b>Recirculação (L·h<sup>-1</sup>)</b>	-	-	-	0,7	0,7	-	
<b>V<sub>asc</sub> (m·h<sup>-1</sup>)</b>	0,016	0,021	0,031	0,174	0,174	0,016	
<b>BTEX</b>	Afluente (µg·L <sup>-1</sup> )	18030 (3916)	17020 (1704)	14626 (1366)	16158 (1280)	19537 (3109)	19117 (1243)
	Efluente (µg·L <sup>-1</sup> )	4166 (1512)	4943 (676)	5320 (386)	3227 (212)	2677 (576)	4126 (606)
	TR (µg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	6932 (1514)	8052 (1125)	9305 (1604)	6465 (580)	8430 (1615)	7495 (664)
	Eficiência (%)	77,1 (5,9)	70,8 (4,4)	63,2 (5,7)	80,0 (1,3)	85,9 (4,5)	78,4 (3,3)
<b>B</b>	Afluente (µg·L <sup>-1</sup> )	3394 (507)	2887 (335)	2567 (183)	2658 (226)	2995 (488)	2757 (286)
	Efluente (µg·L <sup>-1</sup> )	1587 (466)	1622 (275)	1569 (160)	1294 (102)	1122 (290)	1456 (169)
	TR (µg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	904 (289)	843 (224)	998 (324)	682 (75)	937 (257)	651 (144)
	Eficiência (%)	53,0 (12,8)	43,5 (9,5)	38,3 (11,2)	51,2 (2,3)	61,8 (10,9)	46,9 (7,7)
<b>T</b>	Afluente (µg·L <sup>-1</sup> )	2901 (715)	2673 (250)	2356 (215)	2545 (177)	3332 (559)	3273 (201)
	Efluente (µg·L <sup>-1</sup> )	742 (386)	496 (184)	423 (87)	240 (25)	103 (119)	205 (99)
	TR (µg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	1079 (268)	1451 (223)	1933 (246)	1152 (90)	1615 (311)	1534 (112)
	Eficiência (%)	74,9 (10,2)	81,2 (7,5)	81,8 (4,5)	90,5 (1,2)	96,5 (4,3)	93,7 (3,2)
<b>E</b>	Afluente (µg·L <sup>-1</sup> )	3037 (848)	3031 (349)	2509 (293)	2817 (221)	3462 (532)	3481 (258)
	Efluente (µg·L <sup>-1</sup> )	431 (237)	686 (93)	808 (61)	395 (30)	290 (69)	516 (122)
	TR (µg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	1303 (324)	1563 (219)	1701 (324)	1211 (112)	1586 (280)	1482 (118)
	Eficiência (%)	86,7 (5,1)	77,2 (3,1)	67,3 (5,9)	85,9 (1,6)	91,3 (3,1)	85,2 (3,1)
<b>o-X</b>	Afluente (µg·L <sup>-1</sup> )	2904 (751)	2532 (230)	2201 (219)	2438 (193)	2989 (566)	3077 (213)
	Efluente (µg·L <sup>-1</sup> )	553 (279)	768 (88)	883 (63)	484 (33)	437 (58)	716 (107)
	TR (µg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	1176 (277)	1176 (153)	1318 (246)	977 (86)	1276 (285)	1181 (116)
	Eficiência (%)	81,8 (6,9)	69,5 (4,0)	59,4 (5,9)	80,1 (1,2)	84,8 (4,1)	76,7 (3,6)

Tabela 4.3 – Desempenho operacional do reator em termos de remoção dos compostos BTEX (conclusão).

<b>Etapa</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>	<b>VII</b>	
<b>TDH (h)</b>	48	36	24	48	48	48	
<b>Etanol (g·L<sup>-1</sup>)</b>	0,72	0,76	0,77	0,76	0,11	0,10	
<b>Recirculação (L·h<sup>-1</sup>)</b>	-	-	-	0,7	0,7	-	
<b>V<sub>asc</sub> (m·h<sup>-1</sup>)</b>	0,016	0,021	0,031	0,174	0,174	0,016	
<b>m,p-X</b>	Afluente (μg·L <sup>-1</sup> )	5945 (1443)	5897 (599)	4993 (498)	5700 (476)	6760 (1077)	6529 (461)
	Efluente (μg·L <sup>-1</sup> )	827 (434)	1369 (155)	1637 (127)	814 (39)	726 (83)	1233 (217)
	TR (μg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	2559 (556)	3019 (405)	3356 (535)	2443 (226)	3017 (554)	2648 (249)
	Eficiência (%)	86,8 (5,2)	76,6 (3,3)	66,9 (4,7)	85,7 (0,9)	88,9 (2,8)	81,1 (3,4)

TDH, tempo de detenção hidráulica; V<sub>asc</sub>, velocidade ascensional; B, benzeno; T, tolueno; E, etilbenzeno; o-X, orto-xileno; m,p-X, meta- e para-xilenos; TR; taxa de remoção.

O desvio padrão é exibido entre parênteses.



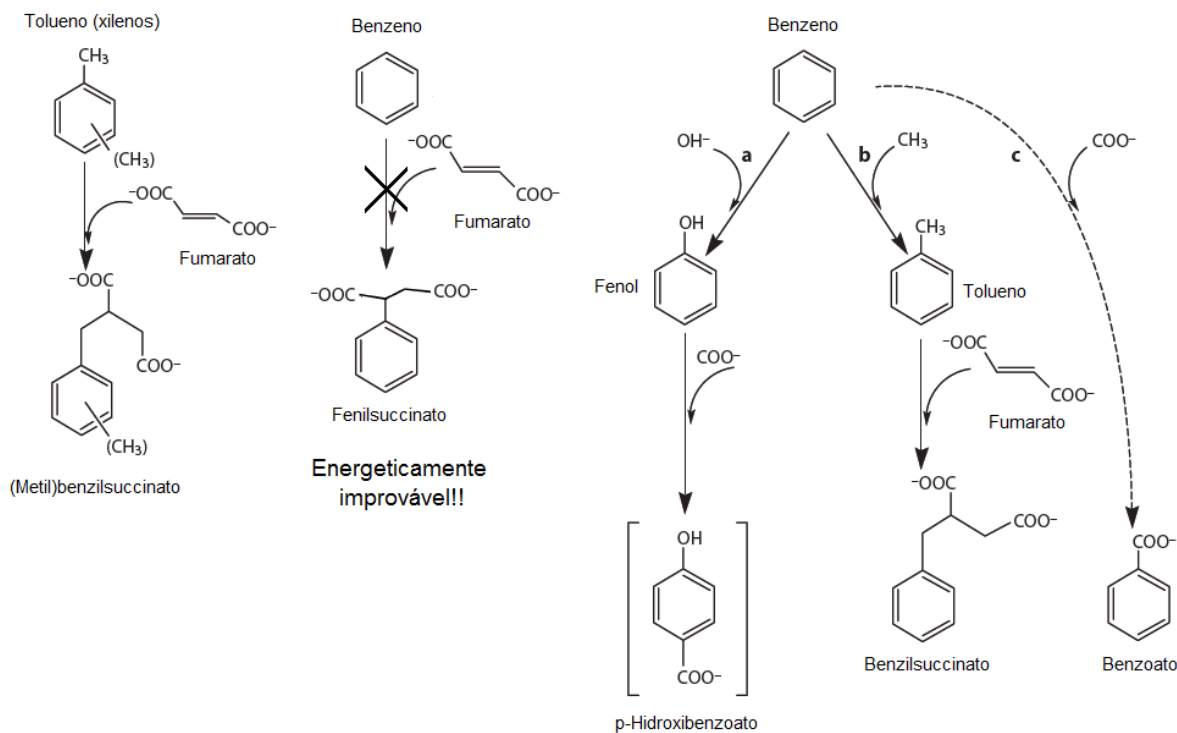
De fato, já era esperado que as menores eficiências fossem alcançadas para o benzeno, já que vários estudos sobre a degradação anaeróbia de BTEX mostram que esse composto é o mais recalcitrante sob tais condições (FOGHT, 2008; LANGENHOFF; ZEHNDER; SCHRAA, 1996; PHELPS; YOUNG, 1999; SIDDIQUE *et al.*, 2007; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010), o que pode ser justificado pelo fato de o benzeno ser termodinamicamente muito estável devido à simetria de elétrons  $\pi$  do anel aromático e à falta de substituintes potencialmente desestabilizantes ou reativos (VOGT; KLEINSTEUBER; RICHNOW, 2011). Por outro lado, em contraste com a recalcitrância do benzeno, a literatura reporta que o tolueno é fácil e preferencialmente degradado diante dos outros compostos BTEX em condições anaeróbias (DOU *et al.*, 2008; FOGHT, 2008; HU *et al.*, 2007; LANGENHOFF; ZEHNDER; SCHRAA, 1996; MECKENSTOCK; WARTHMAN; SCHÄFER, 2004; PHELPS; YOUNG, 1999; SIDDIQUE *et al.*, 2007; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010), pois, segundo Foght (2008), os genes catabólicos para esses compostos são reprimidos pelo tolueno.

Além disso, conforme mencionado no capítulo 2, enquanto a ativação inicial, sob condições anaeróbias, de compostos alquilados, como, por exemplo, tolueno e xilenos e, em alguns casos, até o etilbenzeno, ocorre de forma favorável por meio da adição de fumarato, formando (metil)benzilsuccinato, tal mecanismo é considerado energeticamente improvável de acontecer durante a degradação inicial de benzeno, já que a remoção de um átomo de hidrogênio do anel benzênico para a formação de radical fenil requer uma energia de ativação muito elevada ( $> 460 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) (Figura 4.4) (COATES; CHAKRABORTY; MCINERNEY, 2002; RABUS *et al.*, 2001; VOGT; KLEINSTEUBER; RICHNOW, 2011; WIDDEL; RABUS, 2001). Logo, rotas metabólicas alternativas para a ativação inicial desse composto são reportadas na literatura, sendo as mais prováveis: (a) hidroxilação, produzindo fenol, seguida da formação de p-hidroxibenzoato por carboxilação; (b) metilação, produzindo tolueno, seguida da adição de fumarato para produção de benzilsuccinato; e (c) carboxilação, em que é produzido benzoato (Figura 4.4) (COATES; CHAKRABORTY; MCINERNEY, 2002; FOGHT, 2008).

Contudo, Coates, Chakraborty e McInerney (2002) afirmam que apenas a reação de metilação do benzeno a tolueno é energeticamente favorável sob condições anaeróbias, podendo utilizar S-adenosilmetionina ou metil-tetrahidrofolato como doadores de radical metil. Mesmo assim, percebe-se como o benzeno possui uma degradação bem mais complexa do que os outros compostos BTEX. Portanto, a partir dessas informações, esperava-se que, no presente trabalho (etapa II), as maiores eficiências de remoção tivessem sido obtidas para o

tolueno, o que, na realidade, não ocorreu, já que sua eficiência média foi a segunda mais baixa (Tabela 4.3).

Figura 4.4 – Rotas metabólicas de ativação inicial de benzeno e tolueno (xilenos).



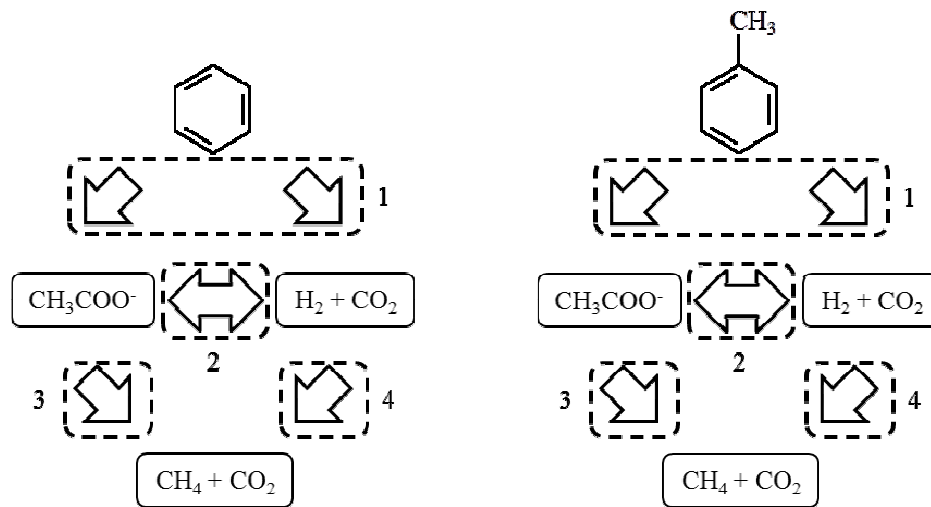
a, Hidroxilação; b, metilação; c, carboxilação.

Fonte: adaptado de Coates, Chakraborty e McInerney (2002); Foght (2008).

Sob condições metanogênicas, consórcios microbianos degradam hidrocarbonetos aromáticos, tais como benzeno e tolueno (Figura 4.5), por meio de interações sintróficas entre diferentes microrganismos, que podem incluir bactérias fermentativas – responsáveis pelo ataque inicial ao composto aromático, disponibilizando produtos parcialmente oxidados, como ácidos graxos ou álcoois, para outras espécies fermentativas e sintróficas –, bactérias acetogênicas (ou homoacetogênicas) e arqueias acetoclásticas e hidrogenotróficas (FICKER *et al.*, 1999; FOGHT, 2008; SAKAI *et al.*, 2009; SCHINK, 1997; ULRICH; EDWARDS, 2003; ZWOLINSKI; HARRIS; HICKEY, 2000).

Portanto, não há uma regra geral para prever a ordem de preferência na degradação de uma mistura de BTEX, especialmente em consórcios microbianos com uma maior complexidade, devendo, assim, ser consideradas, além das características termodinâmicas de cada composto, as interações sinérgicas e antagônicas entre eles durante o processo de degradação, a afinidade individual dos microrganismos pelos compostos e suas interações sintróficas (DOU; LIU; HU, 2008; FOGHT, 2008; JO *et al.*, 2008b).

Figura 4.5 – Rota metabólica simplificada da degradação anaeróbica sintrófica de benzeno e tolueno sob condições metanogênicas.



1, Bactérias fermentativas (ex.: *Cryptanaerobacter/Pelotomaculum*); 2, bactérias homoacetogênicas (ex.: *Desulfotomaculum*); 3, arqueias acetoclásticas (ex.: *Methanosaeta*); 4, arqueias acetotróficas (ex.: *Methanospirillum*).

Fonte: adaptado de Ficker *et al.* (1999); Vogt, Kleinstüber e Richnow (2011); Zwolinski, Harris e Hickey (2000).

Na etapa III, o TDH do reator foi reduzido de 48 para 36 h, e as eficiências médias de remoção de todos os compostos diminuíram ( $p \leq 0,007$ ), com exceção do tolueno, para o qual se observou um valor médio maior ( $p = 0,044$ ) (Tabela 4.3). Porém, considerando apenas os últimos resultados da etapa II para esse alquilbenzeno (após o dia 170 de operação) (Figura 4.3), pôde-se perceber claramente um decréscimo de mais de 7% na eficiência média de remoção ( $p = 0,032$ ) na etapa III. Mesmo assim, a partir dessa etapa, o tolueno passou a ser o composto para o qual as maiores eficiências médias de remoção foram alcançadas (Tabela 4.2).

Particularmente para o etilbenzeno e os xilenos, as eficiências de remoção diminuíram ao longo da etapa III, o que poderia ser atribuído ao comportamento similar observado para suas concentrações afluentes (Figura 4.3). Entretanto, uma tendência de aumento das concentrações efluentes ao longo do tempo também foi constatada (Figura 4.3), ou seja, a qualidade do efluente diminuiu.

Em seguida, com a diminuição do TDH de 36 para 24 h (etapa IV), as eficiências de remoção de benzeno ( $p = 0,307$ ) e tolueno ( $p = 0,622$ ) permaneceram estatisticamente semelhantes às obtidas na etapa III (Figura 4.3), enquanto as dos demais compostos diminuíram significativamente (~10%) ( $p \leq 0,002$ ) (Tabela 4.3). Embora as concentrações afluentes de BTEX tenham sido evidentemente menores durante a etapa IV ( $0,004 \leq p \leq$

0,034) (Tabela 4.3), o que poderia ter contribuído para a redução da eficiência do etilbenzeno e dos xilenos, suas concentrações efluentes foram significativamente maiores do que as da etapa anterior ( $0,002 \leq p \leq 0,005$ ) (Figura 4.3). Logo, de modo geral, a redução do TDH parece ter afetado negativamente o desempenho de remoção de BTEX do reator em consequência, muito provavelmente, do aumento da carga desses compostos aplicada ao sistema (de 9,0 para 14,6 mg BTEX·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>), o qual não foi acompanhado por um crescimento celular proporcional dos microrganismos degradadores de BTEX devido às suas propriedades cinéticas específicas (JUTEAU *et al.*, 1999).

Ramakrishnan e Gupta (2008b), durante o tratamento de água residuária sintética contendo fenóis (752 mg·L<sup>-1</sup>) em um reator anaeróbio híbrido mesofílico (27 °C), observaram que, ao reduzirem o TDH de 36 para 24 e, em seguida, para 18 h, a eficiência de remoção desses compostos aromáticos diminuiu, respectivamente, de 99 para 96 e, finalmente, para 91,5%. Porém, a partir de análises morfológicas dos grânulos do inóculo por microscopia eletrônica de varredura, os autores sugeriram que diminuição da bioatividade do sistema pode ser atribuída ao aumento da toxicidade da microbiota causada pela elevação da carga de compostos fenólicos, decorrente da diminuição do TDH.

Em contraste, de Nardi *et al.* (2005), utilizando um RAHLF mesofílico (25 °C) para a remoção de benzeno (14,5 mg·L<sup>-1</sup>), tolueno (12,5 mg·L<sup>-1</sup>) e m-xileno (5,5 mg·L<sup>-1</sup>) de água contaminada com gasolina, não observaram diferença no desempenho de remoção de BTX do seu reator com a redução do TDH de 20 para 16 h. Todavia, as eficiências de remoção caíram subitamente de 95 para 70% quando o reator passou a ser operado com um TDH de apenas 8 h (DE NARDI *et al.*, 2005).

Na etapa V, o TDH foi restabelecido para 48 h, e uma vazão de recirculação de 0,7 L·h<sup>-1</sup> (relação R/A ≈ 10) foi aplicada ao reator. Conseqüentemente, as eficiências de remoção de todos os hidrocarbonetos aumentaram consideravelmente em relação à etapa anterior ( $p = 0,002$ ), garantindo a obtenção de menores concentrações efluentes ( $p = 0,002$ ) (Tabela 4.3). Além disso, o reator apresentou excelente estabilidade operacional (Figura 4.3).

Entretanto, não é possível atribuir a melhoria do desempenho do reator, exclusivamente, ao uso de recirculação de efluente, já que a carga de poluente aplicada na etapa V (TDH = 48 h) era 50% menor do que na etapa IV (TDH = 24 h). Assim, de forma a verificar o impacto da recirculação para um mesmo TDH, os resultados foram comparados com aqueles obtidos no final da etapa II. Inesperadamente, para todos os compostos BTEX, os testes estatísticos não revelaram diferenças significativas entre as eficiências de remoção ( $0,074 \leq p \leq 0,943$ ) e as concentrações efluentes ( $0,054 \leq p \leq 0,520$ ) obtidas nas etapas II e V.

Portanto, aparentemente, a recirculação não afetou o desempenho de remoção de BTEX do reator.

Contudo, experimentos em fluxo contínuo com efluentes contendo fenóis – compostos aromáticos cuja degradação anaeróbia é semelhante à dos BTEX – mostram que, normalmente, a recirculação de efluente tem um impacto positivo na capacidade de remoção desses poluentes, já que, além de melhorar a transferência de massa, favorece a diluição do afluente no início do reator, mantendo, assim, a concentração de compostos inibitórios dentro de uma faixa adequada (VEERESH; KUMAR; MEHROTRA, 2005). Ramakrishnan e Gupta (2008a), por exemplo, durante o tratamento de efluente fenólico ( $752 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) em um reator anaeróbio híbrido (TDH = 12 h) mesofílico ( $27 \text{ }^\circ\text{C}$ ), observaram que, após a aplicação de uma relação R/A de 1,0, a eficiência de remoção de compostos fenólicos aumentou de 88 para 95%.

Como, no presente estudo, não se verificou alteração na remoção dos hidrocarbonetos aromáticos com a introdução da vazão de recirculação, é bastante provável que nem a transferência de massa fosse um fator limitante do processo nem as concentrações dos poluentes estivessem em níveis inibitórios.

Posteriormente, na etapa VI, a carga de co-substrato foi reduzida (em aproximadamente 7 vezes) de forma a avaliar seu impacto na remoção anaeróbia de BTEX, já que o etanol é preferencialmente degradado em relação a esses compostos sob diversas condições redox (aeróbia, desnitrificante, sulfetogênica e metanogênica), dificultando, assim, o processo de degradação dos hidrocarbonetos aromáticos (CHEN; BARKER; GUI, 2008; CORSEUIL *et al.*, 1998; CORSEUIL *et al.*, 2011; DA SILVA; RUIZ-AGUILAR; ALVAREZ, 2005).

No início da etapa, observou-se uma elevação da eficiência de remoção de todos os compostos BTEX, notadamente para o benzeno (Figura 4.3). Entretanto, ao longo do tempo, as concentrações efluentes dos hidrocarbonetos aumentaram. Porém, apenas para o benzeno, verificou-se um decréscimo gradual das eficiências para valores próximos aos obtidos na etapa anterior (Figura 4.3). Provavelmente, esse comportamento poderia ser consequência de uma readaptação da comunidade microbiana às novas condições operacionais (escassez de fonte de carbono). Mesmo assim, as eficiências de remoção de todos os compostos BTEX dessa etapa experimental foram consideradas estatisticamente superiores às da etapa V ( $0,007 \leq p \leq 0,030$ ) (Tabela 4.3). Com relação à qualidade do efluente, apenas as dos compostos benzeno ( $p = 0,174$ ) e o-xileno ( $p = 0,103$ ) não melhoraram significativamente (Tabela 4.3)

Portanto, aparentemente, a escassez de etanol, favoreceu a degradação de BTEX, estando de acordo com experimentos em batelada anteriores, os quais mostraram que a adição de substratos preferenciais, como, por exemplo, acetato, hidrogênio, metanol, glicose, aminoácidos, ácidos graxos e extrato de levedura, inibiu completamente a degradação de tolueno e xilenos, em condições metanogênicas e sulfetogênicas, até que tais co-substratos fossem quase totalmente consumidos (EDWARDS; GRBIĆ-GALIĆ, 1992, 1994).

Além disso, acetato e hidrogênio – possíveis intermediários da degradação sintrófica de BTEX (Figura 4.5) (Tabela 4.4) – podem ser produzidos a partir da digestão anaeróbia de uma série de outros substratos, entre os quais etanol. Logo, a degradação de elevadas concentrações de etanol pode resultar em um acúmulo transiente de acetato e hidrogênio, o que, provavelmente, inibiria a degradação sintrófica de BTEX, já que o processo passaria a ser energeticamente desfavorável (EDWARDS; GRBIĆ-GALIĆ, 1994; RAKOCZY *et al.*, 2011), conforme equação 1 da Tabela 4.4.

Tabela 4.4 – Estequiometria e termodinâmica das rotas metabólicas da degradação anaeróbia sintrófica de benzeno sob condições metanogênicas.

Nº. da equação	Reação	$\Delta G^0$ (kJ·mol <sup>-1</sup> )
1	$C_6H_6 + 6H_2O \rightarrow 3CH_3COO^- + 3H^+ + 3H_2$	190,19
2	$3CH_3COO^- + 3H^+ \rightarrow 3CO_2 + 3CH_4$	-227,09
3	$3H_2 + 0,75CO_2 \rightarrow 0,75CH_4 + 1,5H_2O$	-98,05
4 (global)	$C_6H_6 + 4,5H_2O \rightarrow 2,25CO_2 + 3,75CH_4$	-134,95

Fonte: Corseuil *et al.* (2011).

É interessante lembrar que, mesmo quando altas concentrações de etanol eram utilizadas (etapas II a V), a remoção de BTEX ocorreu de forma razoável (40 a 90%). Portanto, supõe-se que a microbiota do reator poderia conter populações com afinidade específica aos BTEX, as quais seriam, provavelmente, responsáveis pelo ataque inicial a esses hidrocarbonetos.

Adicionalmente, como houve um aumento da eficiência de remoção dos compostos aromáticos logo após a redução da carga de co-substrato, sugere-se que algumas populações microbianas, responsáveis pela fermentação inicial de etanol, também fossem capazes de iniciar a degradação de BTEX, embora a fermentação desses compostos para acetato e hidrogênio seja energeticamente menos favorável do que a do etanol (RAKOCZY *et al.*, 2011; SCHINK, 1997).

Assim, devido à escassez de um substrato mais facilmente degradável, tais microrganismos teriam passado a degradar mais ativamente os hidrocarbonetos aromáticos. Logo, essa hipótese associada ao fato de que menores quantidades de hidrogênio e acetato teriam sido produzidas a partir da fermentação de etanol, as reações sintróficas de degradação de BTEX teriam sido favorecidas, justificando o melhor desempenho inicial do reator. Contudo, análises de microbiologia molecular são necessárias para o esclarecimento dessas hipóteses sobre a dinâmica populacional durante o processo de degradação dos compostos em estudo.

Finalmente, na etapa VII, o sistema de recirculação foi desligado de forma a confirmar seu impacto no desempenho de remoção de BTEX do reator quando baixas concentrações de co-substrato eram utilizadas. Com exceção do tolueno ( $p = 0,191$ ), as eficiências de remoção de todos os compostos diminuíram significativamente ( $0,002 \leq p \leq 0,009$ ), comprometendo, portanto, a qualidade do efluente (Tabela 4.3).

Assim, ao contrário do observado nas etapas II e V (alta concentração de etanol), aparentemente, a recirculação teve um efeito positivo na remoção de BTEX para baixas concentrações de co-substrato. Provavelmente, a maior produção de biogás a partir de altas cargas de etanol já teria sido suficiente para garantir condições hidrodinâmicas favoráveis a uma transferência de massa efetiva, mascarando, assim, o efeito da recirculação na remoção desses compostos aromáticos. Além disso, o excesso de substrato preferencialmente degradável (etanol) também pode ter contribuído para o comportamento observado.

Ressalta-se que o efeito da adaptação do lodo de inóculo aos compostos BTEX durante o experimento não foi considerado relevante quando comparado ao impacto da mudança das condições operacionais, já que não se observou uma tendência de aumento das eficiências de remoção de BTEX ao longo do tempo das etapas experimentais (Figura 4.3).

Ainda, também é importante mencionar que, esporadicamente, foram feitas análises de BTEX no biogás. Durante todo o experimento, observou-se a presença desses hidrocarbonetos aromáticos no biogás, ou seja, provavelmente, uma fração desses compostos estava sendo removido por volatilização. Entretanto, a metodologia empregada não permitia a quantificação de BTEX em amostras gasosas. Portanto, a partir de tais análises, não foi possível verificar o impacto da variação dos parâmetros operacionais testados neste trabalho, como, por exemplo, a recirculação de efluente, na remoção de BTEX por volatilização. Contudo, Martínez, Cuervo-López e Gomez (2007) realizaram um ensaio abiótico em reator UASB ( $V_{\text{útil}} = 1,4 \text{ L}$ ; TDH = 2 dias) alimentado com um efluente sintético contendo  $232 \text{ mg L}^{-1}$  de tolueno-C, ou seja, em uma concentração bem superior a utilizada no presente

experimento, e observaram uma perda desse composto por volatilização de apenas 4%. Portanto, segundo os autores, o reator UASB provou ser um sistema adequado para a avaliação de remoção de tolueno sob condições desnitrificantes. Adicionalmente, como não houve uma correlação entre produção de biogás e eficiência de remoção de BTEX, possivelmente a perda por volatilização era negligenciável.

Por fim, ressalta-se a importância de um pós-tratamento para a remoção das concentrações residuais de BTEX e de outros prováveis contaminantes de forma a atender aos padrões de qualidade de água potável estabelecidos pelas legislações ambientais.

#### **4.4 Conclusões**

O reator anaeróbio metanogênico mesofílico apresentou boa estabilidade operacional e alcançou eficiências médias de remoção de BTEX que, dependendo do composto, variaram de 38 a 97% durante todo o experimento. Enquanto as maiores eficiências foram alcançadas para o tolueno (75-97%), o benzeno foi o composto mais recalcitrante, com eficiências médias inferiores a 62%.

A redução do TDH e, conseqüentemente, o aumento da carga aplicada de BTEX, parece ter afetado negativamente a remoção desses compostos.

O impacto da recirculação de efluente na remoção de BTEX não foi evidente quando altas concentrações de co-substrato foram utilizadas.

A redução da concentração de etanol teve um impacto positivo na remoção de BTEX, notadamente para o benzeno, reforçando a hipótese de degradação sintrófica no sistema avaliado.



## 5 EFEITO DA RELAÇÃO DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> NO TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ÁGUAS SINTÉTICAS CONTAMINADAS COM BTEX EM REATOR SULFETOGENICO

### 5.1 Introdução

Hidrocarbonetos monoaromáticos, tais como benzeno, tolueno, etilbenzeno e os isômeros do xileno (BTEX), são importantes constituintes do petróleo bruto e de seus derivados (WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010). De fato, esses compostos podem corresponder a até aproximadamente 18%, em massa, de uma mistura padrão de gasolina (JO *et al.*, 2008a). Portanto, a partir do vazamento acidental de tubulações e tanques de armazenamento subterrâneos de combustíveis fósseis, os BTEX – os quais possuem solubilidade e mobilidade em água relativamente alta – podem contaminar extensivamente solos e aquíferos subterrâneos, comprometendo fontes de água potável (DOU; LIU; HU, 2008; DOU *et al.*, 2008) e representando, assim, um sério problema ambiental e de saúde pública devido à elevada toxicidade e ao potencial carcinogênico desses compostos (FOGHT, 2008; JO *et al.*, 2008a; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010).

Além disso, no Brasil, etanol é adicionado à gasolina (20-25%, em volume) de forma a atenuar as emissões atmosféricas automotivas prejudiciais. Entretanto, isso pode agravar o problema de contaminação de aquíferos subterrâneos, já que o etanol pode exercer um efeito de co-solvência, aumentando a solubilidade em água dos BTEX e, conseqüentemente, resultando em concentrações mais elevadas (CORSEUIL *et al.*, 2011).

Entre as várias tecnologias de remediação, *in situ* ou *ex situ*, disponíveis para o tratamento de águas contaminadas com BTEX, os processos biológicos (ou biorremediação), especialmente os anaeróbios, têm se destacado por serem econômicos, eficientes e ambientalmente corretos. De fato, a biorremediação *ex situ* por meio de reatores anaeróbios tem sido utilizada com sucesso no tratamento de águas contaminadas com poluentes químicos ou orgânicos, incluindo os BTEX. Entretanto, alguns parâmetros operacionais, tais como concentração afluente de poluentes, carga orgânica volumétrica, presença de aceptores alternativos de elétrons e outros, podem influenciar no desempenho de degradação desses compostos (FARHADIAN *et al.*, 2008).

Diferentes aceptores alternativos de elétrons, tais como nitrato, sulfato, Fe (III), Mn (IV) e perclorato, têm sido utilizados na remediação anaeróbia de águas contaminadas com BTEX (FOGHT, 2008; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010). Embora a redução de sulfato e a metanogênese ocorram em condições redox similares (FOGHT, 2008;

FOWLER *et al.*, 2012), estudos mostram que a degradação anaeróbia de BTEX é estimulada pela adição de sulfato como aceptor alternativo de elétrons, e, conseqüentemente, elevadas eficiências de remoção podem ser alcançadas (ANDERSON; LOVLEY, 2000; CUNNINGHAM *et al.*, 2000; DA SILVA; RUIZ-AGUILAR; ALVAREZ, 2005; PHELPS; YOUNG, 1999).

Outro fator importante é a presença de etanol em águas contaminadas com BTEX a partir de vazamentos de tanques de gasolina. Estudos mostram que esse composto é preferencialmente degradado em relação aos BTEX sob diversas condições redox (aeróbia, desnitrificante, sulfetogênica e metanogênica), dificultando, assim, o seu processo de degradação (CHEN; BARKER; GUI, 2008; CORSEUIL *et al.*, 1998; CORSEUIL *et al.*, 2011; DA SILVA; RUIZ-AGUILAR; ALVAREZ, 2005). Além disso, acetato e hidrogênio – possíveis intermediários da degradação sintrófica de BTEX – podem ser produzidos a partir da digestão anaeróbia de etanol. Logo, a degradação de elevadas concentrações desse co-substrato pode resultar em um acúmulo transiente de acetato e hidrogênio, o que, provavelmente, inibiria a degradação sintrófica de BTEX, já que o processo passaria a ser energeticamente desfavorável (EDWARDS; GRBIĆ-GALIĆ, 1994; RAKOCZY *et al.*, 2011).

Assim, o principal objetivo do presente estudo foi avaliar o desempenho de remoção anaeróbia de BTEX em reator sulfetogênico quando submetido a diversas relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Além disso, verificou-se o impacto da redução da carga do co-substrato etanol na remoção desses hidrocarbonetos aromáticos.

## 5.2 Material e métodos

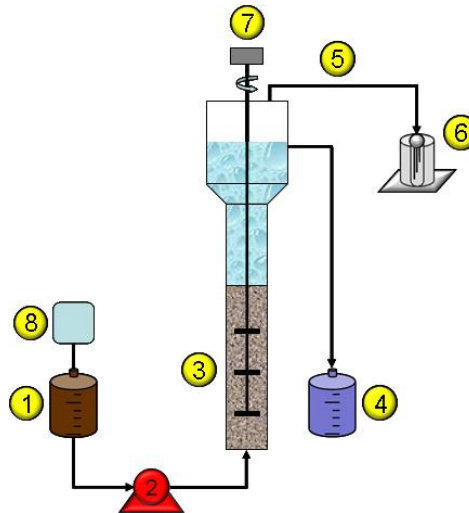
### 5.2.1 Sistema experimental

O experimento em fluxo contínuo foi realizado em um reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB, *up-flow anaerobic sludge blanket*), em escala laboratorial (volume útil de 3,3 L), feito a partir de tubos e conexões de PVC para esgoto (Figura 5.1). O reator foi inoculado com lodo anaeróbio (~50 g SSV·L<sup>-1</sup>) de um reator de circulação interna (IC, *internal circulation*) mesofílico de uma cervejaria (Horizonte, Ceará, Brasil), cuja atividade metanogênica específica (AME) foi 0,63 g DQO (glicose)·g SSV<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>.

A fim de evitar a formação de caminhos preferenciais ou curtos-circuitos através da manta de lodo e facilitar a liberação do biogás, evitando o efeito pistão (elevação da manta

de lodo causada pelo biogás aprisionado), um homogeneizador (5 rpm) foi instalado no reator (LEITÃO, 2004).

Figura 5.1 – Configuração do sistema experimental utilizado na remoção de BTEX sob condições anaeróbias sulfetogênicas.



1, afluente; 2, bomba peristáltica; 3, reator UASB; 4, efluente; 5, biogás; 6, medidor de gás; 7, homogeneizador; 8, bolsa de Tedlar® (N<sub>2</sub>).

O afluente era armazenado a aproximadamente 5 °C em um recipiente de PVC (volume total de 7 L) provido de uma atmosfera de N<sub>2</sub> (100%, White Martins, Brasil), a partir de uma bolsa de Tedlar® para amostragem de gás (Supelco, EUA), a fim de evitar a volatilização de BTEX dentro do recipiente e minimizar o contato do afluente com o O<sub>2</sub> do ar.

O reator era alimentado por meio de bomba peristáltica (Minipuls 3, Gilson, EUA) através de tubos flexíveis de Tygon® *Fuel and Lubricant* (Cole-Parmer, EUA) – material inerte aos compostos aromáticos testados – e operado à temperatura ambiente de aproximadamente 27 °C. O biogás produzido era coletado e medido por um medidor de gás previamente calibrado (método de deslocamento de líquido).

### 5.2.2 Água contaminada sintética

A água contaminada sintética consistia de uma solução aquosa contendo BTEX, ou seja, benzeno (99,5%, Dinâmica Química, Brasil), tolueno (99,5%, Vetec, Brasil), etilbenzeno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA), o-xileno (98,0%, Fluka, EUA), m-xileno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA) e p-xileno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA), um co-substrato, meio basal (macro e micronutrientes) e um tampão. O co-substrato era o etanol (99,8%, Dinâmica,

Brasil), e o meio basal era preparado de acordo com Firmino *et al.* (2010). Para manter o pH próximo a 7,0, a solução era tamponada com bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) na proporção de 1 g de NaHCO<sub>3</sub> para cada 1 g DQO. Em algumas etapas experimentais, o reator era suplementado com sulfato de sódio anidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (99,0%, Vetec, Brasil) como fonte do acceptor final de elétrons sulfato (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>). Todos os reagentes foram utilizados como adquiridos, sem purificação adicional.

### 5.2.3 Procedimento experimental

O experimento com água contaminada com BTEX foi dividido em sete etapas (Tabela 5.1), incluindo a partida do reator (período de aclimatação) (etapa I), durante a qual o etanol era a única fonte de carbono e energia. Após atingir condições operacionais estáveis durante o período de partida, o reator passou a ser alimentado com BTEX a uma concentração total média de aproximadamente 18 mg·L<sup>-1</sup> (~3 mg·L<sup>-1</sup> de cada composto) (etapa II). Posteriormente, o reator foi suplementado com sulfato em diferentes relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> para avaliar o impacto desse acceptor final de elétrons no desempenho do reator anaeróbio (etapas III a VI).

Tabela 5.1 – Parâmetros operacionais do reator sob condições anaeróbias sulfetogênicas.

<b>Etapa</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>	<b>VII</b>
Fim da etapa (dia)	49	96	122	201	251	308	342
TDH (h)	48	48	48	48	48	48	48
DQO total (g·L <sup>-1</sup> )	1,8	1,5	1,9	1,7	1,5	1,4	0,3
Etanol (g·L <sup>-1</sup> )	0,87	0,70	0,87	0,78	0,70	0,66	0,12
BTEX (mg·L <sup>-1</sup> )	-	14,2	22,3	21,1	19,1	15,2	20,6
Benzeno (mg·L <sup>-1</sup> )	-	3,7	3,8	3,5	3,2	2,5	2,9
Tolueno (mg·L <sup>-1</sup> )	-	2,3	3,6	3,3	2,9	2,4	3,5
Etilbenzeno (mg·L <sup>-1</sup> )	-	2,2	3,7	3,8	3,4	2,6	3,7
o-Xileno (mg·L <sup>-1</sup> )	-	2,2	3,8	3,3	2,8	2,3	3,2
m,p-Xilenos <sup>a</sup> (mg·L <sup>-1</sup> )	-	4,2	7,4	7,1	6,7	5,3	7,3
DQO/SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	-	-	12,2	5,2	2,4	0,8	1,3

TDH, tempo de detenção hidráulica; DQO, demanda química de oxigênio.

<sup>a</sup>Os isômeros meta- e para-xilenos foram quantificados juntos devido à limitação do método cromatográfico.

Finalmente, na etapa VII, a fim de avaliar o efeito da carga do co-substrato na remoção anaeróbia de BTEX, a concentração de etanol foi diminuída para aproximadamente

0,3 g DQO·L<sup>-1</sup>. A transição entre as diversas etapas foi feita após a verificação da estabilidade (variação de até 10%) da concentração efluente de BTEX nos três últimos pontos analisados (equivalente a uma semana de operação).

#### **5.2.4 Análises químicas e cromatográficas**

DQO, pH, sulfato e sulfeto eram determinados de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005), enquanto os ácidos graxos voláteis (AGV), pelo método titulométrico de Kapp (BUCHAUER, 1998).

Os compostos BTEX eram determinados por extração por *headspace* estático (Triplus HS, Thermo Scientific, USA) seguido de cromatografia gasosa com detecção por fotoionização (HS-GC-PID, *headspace-gas chromatography-photoionization detection*) (Trace GC Ultra, Thermo Scientific, USA) conforme descrito no capítulo 3 (seção 3.2.2.2). Todas as amostras (15 mL) eram previamente diluídas com água ultrapura (Milli-Q system, EMD Millipore, USA) diretamente em *vials* de vidro borossilicato para *headspace* (20 mL) (Supelco, EUA), os quais eram, em seguida, selados com septos de PTFE/silicone e lacres de alumínio (Supelco, EUA).

A caracterização de biogás foi realizada em termos de ar (O<sub>2</sub> + N<sub>2</sub>), CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, NH<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>S. Ar, CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> eram determinados por cromatografia gasosa com detecção por condutividade térmica (GC-TCD, *gas chromatography-thermal conductivity detection*) (GC-17A, Shimadzu Corporation, Japão) conforme descrito no capítulo 4 (seção 4.2.4). NH<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>S eram determinados por um sensor eletroquímico (Dräger X-am® 5600, Drägerwerk AG & Co. KGaA, Alemanha). A amostra de biogás era previamente diluída com ar atmosférico em um bulbo de vidro para amostragem de gás de 125 mL (Supelco, EUA).

#### **5.2.5 Métodos estatísticos**

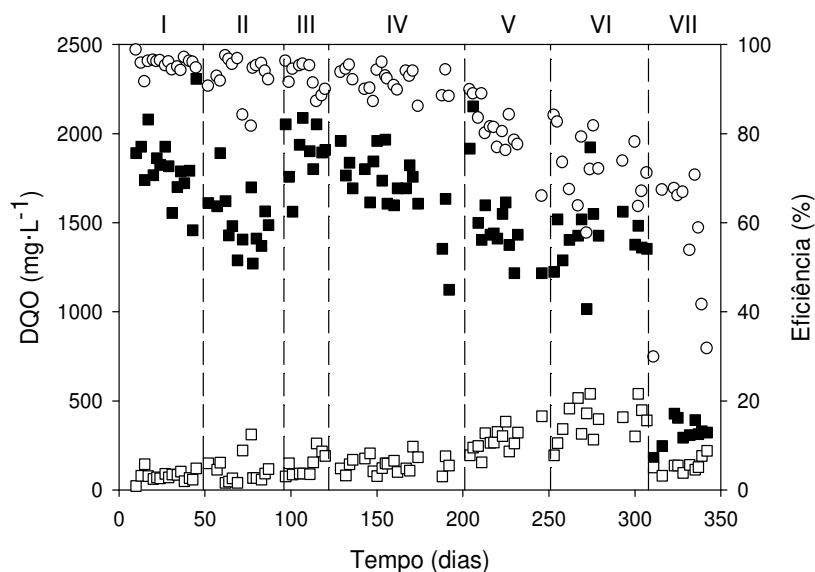
O programa Statgraphics Centurion XV foi utilizado para a análise estatística dos dados, sendo aplicados os testes não-paramétricos de Mann-Whitney e de Kruskal-Wallis, os quais não requerem uma distribuição específica de dados, para comparar o desempenho do reator durante as diferentes etapas experimentais. Os resultados dos testes foram avaliados de acordo com o valor de p. Se  $p \leq 0,050$ , a hipótese nula é rejeitada, ou seja, os grupos de dados são considerados estatisticamente diferentes.

### 5.3 Resultados e discussão

#### 5.3.1 Remoção de DQO, redução de sulfato e produção de metano

Inicialmente, durante a partida do reator (etapa I), quando este era alimentado com afluente livre de BTEX, ou seja, quando o etanol era a única fonte de carbono e de energia, altas eficiências de remoção de DQO (~95%) foram alcançadas (Figura 5.2). Entretanto, a produção média de metano, nessa etapa, foi de apenas 0,218 L por g de DQO removida ( $L \cdot g \text{ DQO}_{\text{rem}}^{-1}$ ) (Tabela 5.2), uma produção muito mais baixa do que a teórica esperada a 1 atm e 27 °C ( $0,385 L \cdot g \text{ DQO}_{\text{rem}}^{-1}$ ), o que pode ter sido resultado, provavelmente, de algum problema no sistema de medição de biogás (vazamento nas conexões, por exemplo).

Figura 5.2 – DQO afluente e efluente e eficiência de remoção.



■, DQO afluente; □, DQO efluente; ○, eficiência de remoção.

Em seguida, verificada sua estabilidade operacional, o reator passou a ser alimentado com BTEX (etapa II), e observou-se uma queda de aproximadamente 3% na eficiência média de remoção de DQO (Tabela 5.2). Entretanto, embora a DQO média afluente, nessa etapa, tenha sido claramente menor do que na etapa I ( $p < 0,001$ ) (Tabela 5.2) – o que poderia justificar essa redução da eficiência –, não houve diferença estatisticamente significativa no desempenho do reator entre as etapas I e II ( $p = 0,070$ ). Além disso, a DQO média efluente da etapa II foi estatisticamente semelhante à da etapa anterior ( $p = 0,574$ ) (Tabela 5.2), ou seja, a qualidade do efluente, em termos de DQO, manteve-se a mesma após a introdução dos compostos aromáticos. Com relação à produção de metano na etapa II, esta

foi quase 2,2 vezes maior do que na etapa I ( $p < 0,001$ ) (Tabela 5.2) e superior ao valor teórico de  $0,385 \text{ L}\cdot\text{g DQO}_{\text{rem}}^{-1}$  a 1 atm e  $27 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $\sim 1,2$  vez maior). Portanto, os compostos BTEX parecem não ter afetado a conversão de substrato, estando de acordo com estudos anteriores (DE NARDI *et al.*, 2005; ENRIGHT; COLLINS; O'FLAHERTY, 2007).

de Nardi *et al.* (2005), por exemplo, ao utilizarem um reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) (TDH = 11,4 h) mesofílico ( $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ) para o tratamento de águas contaminadas com BTEX, não observaram problemas de remoção de matéria orgânica com a introdução de  $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cada composto após o período de aclimação do reator. Na verdade, os autores relataram que, embora a DQO afluyente tivesse aumentado (de 573 para  $733 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), os valores efluentes foram menores do que os do período de aclimação, garantindo um aumento da eficiência média de 93 para 96%.

Enright, Collins e O'Flaherty (2007) também não constataram diminuição significativa na eficiência de remoção de DQO ( $\sim 89\%$ ) após a introdução de  $6,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de tolueno em um reator anaeróbio híbrido (TDH = 24 h), sob condições psicofílicas ( $15 \text{ }^\circ\text{C}$ ), alimentado com água residuária sintética contendo uma mistura de etanol e AGV ( $5 \text{ g DQO}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Ademais, as análises de biogás revelaram que o teor de metano permaneceu acima de 60% (ENRIGHT; COLLINS; O'FLAHERTY, 2007).

Na etapa III, o reator passou a ser suplementado com sulfato em uma relação  $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$  de aproximadamente 12. Não se constatou fase *lag* no processo de redução desse acceptor de elétrons, e concentrações efluentes próximas a  $26 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  foram obtidas, representando, assim, uma eficiência média de redução de sulfato de aproximadamente 73% (Tabela 5.2). Muito provavelmente, bactérias redutoras de sulfato (BRS), como muitas espécies dos gêneros *Desulfovibrio* e *Desulfomicrobium*, já estariam presentes no lodo anaeróbio de cervejaria utilizado neste trabalho, já que são capazes de utilizar etanol e outros compostos orgânicos como substrato em processos fermentativos e acetogênicos na ausência de sulfato (MUYZER; STAMS, 2008; O'FLAHERTY *et al.*, 1999). Portanto, isso explicaria a imediata redução de sulfato alcançada por lodos ou sedimentos não adaptados a sulfato quando suplementados com esse acceptor de elétrons (MUYZER; STAMS, 2008; O'FLAHERTY; COLLERAN, 1999; O'FLAHERTY *et al.*, 1999).

Aparentemente, a introdução de sulfato não afetou o desempenho de remoção de DQO do reator, pois, mesmo com uma DQO média afluyente maior do que a da etapa II ( $p < 0,001$ ) (Tabela 5.2), não houve diferença significativa entre os valores de eficiência ( $p = 0,446$ ) e de DQO efluyente ( $p = 0,169$ ) das duas etapas (Figura 5.2).

Tabela 5.2 – Desempenho operacional do reator em termos de remoção de DQO, redução de sulfato e produção de metano.

Etapa		I	II	III	IV	V	VI	VII
<b>Etanol (g·L<sup>-1</sup>)</b>		0,87	0,70	0,87	0,78	0,70	0,66	0,12
<b>DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup></b>		-	-	12,2	5,2	2,4	0,8	1,3
<b>pH</b>	Efluente	7,4 (0,2)	7,2 (0,1)	7,0 (0,1)	7,3 (0,3)	7,5 (0,2)	7,3 (0,6)	7,9 (0,2)
	Afluente (mg·L <sup>-1</sup> )	1822 (195)	1509 (168)	1895 (159)	1703 (201)	1519 (252)	1429 (197)	322 (74)
<b>DQO</b>	Efluente (mg·L <sup>-1</sup> )	79 (29)	111 (78)	142 (65)	142 (45)	280 (71)	389 (104)	138 (41)
	TR (mg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	871 (95)	699 (74)	877 (81)	780 (105)	619 (140)	519 (101)	92 (39)
	Eficiência (%)	95,6 (1,5)	92,8 (4,7)	92,5 (3,2)	91,8 (2,8)	81,0 (6,2)	72,5 (7,7)	55,4 (15,6)
	Afluente (mg·L <sup>-1</sup> )	-	-	155 (30)	329 (51)	634 (164)	1901 (679)	257 (40)
<b>SO<sub>4</sub><sup>-2</sup></b>	Efluente (mg·L <sup>-1</sup> )	-	-	26 (9)	22 (8)	50 (35)	988 (507)	121 (93)
	TR (mg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	-	-	64 (17)	154 (25)	292 (75)	457 (388)	68 (45)
	Eficiência (%)	-	-	72,7 (17,3)	93,2 (2,8)	92,3 (4,9)	44,9 (28,5)	53,1 (34,4)
<b>CH<sub>4</sub></b>	(L·d <sup>-1</sup> )	0,69 (0,07)	0,99 (0,12)	1,28 (0,17)	1,14 (0,05)	0,70 (0,13)	0,39 (0,07)	-
	(L·g DQO <sub>rem</sub> <sup>-1</sup> )	0,218 (0,019)	0,475 (0,077)	0,480 (0,100)	0,489 (0,047)	0,361 (0,054)	0,283 (0,061)	-

DQO, demanda química de oxigênio; TR; taxa de remoção; DQO<sub>rem</sub>, demanda química de oxigênio removida.

O desvio padrão é exibido entre parênteses.



O'Flaherty e Colleran (1999), no entanto, utilizando um reator anaeróbio híbrido (TDH = 48 h), operado sob condições mesofílicas (35 °C), para o tratamento de água residuária sintética contendo uma mistura de AGV e etanol (12 g DQO·L<sup>-1</sup>), constataram que a suplementação de sulfato em uma relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de 3 causou uma redução da eficiência de remoção de DQO de 95 para 60%. Por outro lado, Fernandes *et al.* (2006) não observaram diferença no desempenho de remoção de DQO (96%) de um RAHLF mesofílico (27 °C), operado com um TDH de 16 h, durante o tratamento de água contaminada com gasolina, mesmo quando o reator passou a ser alimentado com sulfato em uma relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de apenas 1,2. Entretanto, com a adição desse acceptor de elétrons, a metanogênese foi parcialmente suprimida, causando uma redução de 70% na produção de metano (FERNANDES *et al.*, 2006).

Para a redução completa de 1 mol de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> a S<sup>2-</sup>, são necessários 8 mols de elétrons (Equação 5.1), enquanto, para o consumo de 1 mol de O<sub>2</sub>, que corresponde a 32 g de DQO, são necessários 4 mols de elétrons (Equação 5.2). Portanto, para cada 1 g de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> reduzido a S<sup>2-</sup>, é consumido 0,67 g de O<sub>2</sub> (DQO).

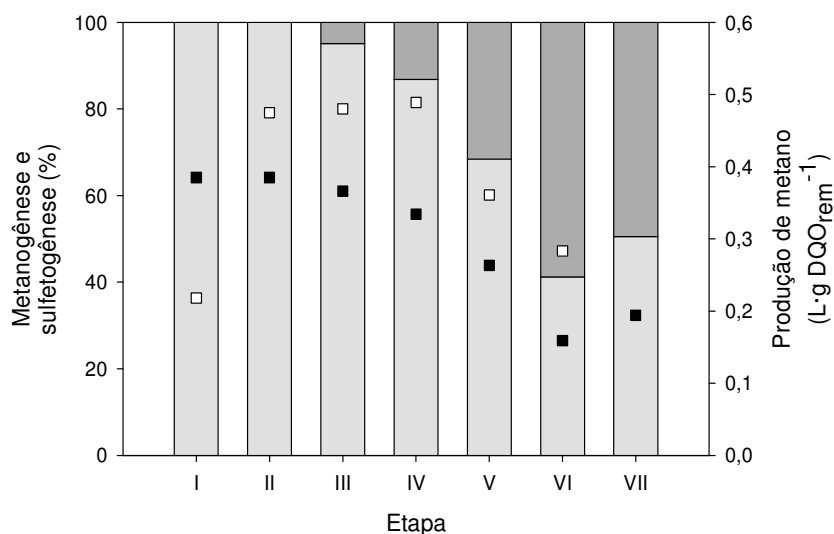


Assim, para a eficiência média de redução de sulfato alcançada na etapa III, em que 129 mg·L<sup>-1</sup> desse acceptor de elétrons foram removidos (Tabela 5.2), a sulfetogênese seria, teoricamente, responsável pelo consumo de 4,9% da DQO removida (~86 mg·L<sup>-1</sup>) (Figura 5.3). Contudo, nessa etapa, não se observou decréscimo equivalente na produção de metano, a qual permaneceu semelhante à da etapa anterior (p = 1,000) (Tabela 5.2).

Segundo Hulshoff Pol *et al.* (1998), geralmente, não se verificam problemas no tratamento anaeróbio de águas residuárias quando uma relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> superior a 10 é utilizada, já que a concentração de H<sub>2</sub>S no reator anaeróbio nunca excederá o valor crítico de 150 mg·L<sup>-1</sup>. Porém, em ensaios em batelada (35 °C) de digestão anaeróbia de lodo aeróbio de sistemas de lodo ativado (5,8 g DQO·L<sup>-1</sup>), foi registrada uma redução de 70% na produção de metano (de 1,23 a 0,37 mL·dia<sup>-1</sup>·g SSV<sup>-1</sup>) com a aplicação de uma relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de 11,6 (JEONG *et al.*, 2008). É importante mencionar que a concentração inicial de sulfato desse experimento era 500 mg·L<sup>-1</sup> (3,2 vezes mais alta do que a do presente estudo), proporcionando uma geração de 120 mg·L<sup>-1</sup> de sulfeto total e, conseqüentemente, 79 mg·L<sup>-1</sup>

de  $\text{H}_2\text{S}$ . Apesar de a concentração de  $\text{H}_2\text{S}$  não ter excedido o valor crítico já mencionado, os autores acreditam que a redução de metano não foi causada somente pela competição entre a metanogênese e a sulfetogênese, mas principalmente pela inibição por  $\text{H}_2\text{S}$ , já que houve uma diminuição da eficiência de remoção de DQO de 93 para 73% (JEONG *et al.*, 2008).

Figura 5.3 – Distribuição percentual da DQO removida entre a metanogênese e a sulfetogênese e produções de metano teórica e medida.



□, Metanogênese; ■, sulfetogênese; ■, produção de  $\text{CH}_4$  teórica; □, produção de  $\text{CH}_4$  medida.

Por outro lado, Jeong *et al.* (2009), em experimentos em fluxo contínuo com um reator anaeróbico mesofílico (35 °C), operado com um TDH de 10 dias, para a digestão de lodo aeróbio de sistema de lodo ativado após pré-tratamento térmico (10 g DQO·L<sup>-1</sup>), não relataram problemas na degradação de matéria orgânica com a adição de 1 g·L<sup>-1</sup> de sulfato (relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de 10). Embora os autores tenham constatado uma diminuição da produção de metano de 0,36 para 0,31 L·g DQO<sup>-1</sup>, não foram observados indícios de inibição sob essa condição mesmo para uma concentração de sulfeto total de aproximadamente 300 mg·L<sup>-1</sup> (~150 mg·L<sup>-1</sup> de  $\text{H}_2\text{S}$  em pH 7), já que não houve uma redução relevante na eficiência de remoção de DQO (de 69,37 para 68,30%). Portanto, a diminuição da produção de metano pode ser atribuída principalmente à competição entre a sulfetogênese e a metanogênese pelo substrato, já que, para uma eficiência de redução de sulfato de 91%, aproximadamente 19% da DQO removida foi utilizada pelas BRS (JEONG *et al.*, 2009).

Com relação à inibição por sulfeto, presume-se que é causada pelo sulfeto não ionizado (ou molecular) ( $\text{H}_2\text{S}$ ), já que somente moléculas neutras são capazes de permear a membrana celular (HULSHOFF POL *et al.*, 1998; O'FLAHERTY *et al.*, 1998; SPEECE,

2008). Entretanto, a concentração de H<sub>2</sub>S no líquido é determinada pelo pH e pela temperatura do meio, já que esses fatores afetam sua ionização (Equação 5.3).



Logo, a 27 °C, uma variação de pH de 7 a 8 pode levar a uma rápida diminuição do percentual de H<sub>2</sub>S disponível no líquido de 48 a apenas 8%, o que poderia representar uma redução da inibição por sulfeto. Contudo, a literatura reporta que o H<sub>2</sub>S pode se tornar mais tóxico em níveis de pH mais elevados (O'FLAHERTY *et al.*, 1998; SPEECE, 2008) provavelmente por causa do desenvolvimento de fortes gradientes de pH através da membrana celular, afetando as propriedades difusivas das espécies de sulfeto (FERNÁNDEZ-POLANCO; GARCÍA-ENCINA, 2006). Portanto, normalmente, para pH acima de 7,2, a inibição parece estar mais bem relacionada com a concentração total de sulfeto (H<sub>2</sub>S + HS<sup>-</sup>) (HULSHOFF POL *et al.*, 1998; O'FLAHERTY *et al.*, 1998).

Assim, na etapa III, não foram constatados indícios de inibição por sulfeto no desempenho do reator, pois a concentração média total de sulfeto produzida (43 mg·L<sup>-1</sup>) e, conseqüentemente, a de H<sub>2</sub>S (21 mg·L<sup>-1</sup>) estiveram abaixo dos valores inibitórios encontrados na literatura (HULSHOFF POL *et al.*, 1998; O'FLAHERTY *et al.*, 1998; O'FLAHERTY *et al.*, 1999; SPEECE, 2008).

Posteriormente, quando uma relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de 5,2 foi aplicada ao reator (etapa IV), foram obtidas eficiências de remoção de DQO entre 86 e 96% (Figura 5.2), não havendo diferença significativa entre os valores das etapas III e IV (p = 0,428). Além disso, verificou-se, mais uma vez, que a qualidade do efluente, em termos de DQO, permaneceu inalterada em relação à etapa anterior (p = 0,826) (Tabela 5.2).

Com relação à redução de sulfato, mesmo com uma concentração média afluenta 2,1 vezes maior (p = 0,001), foram alcançadas concentrações efluentes de sulfato estatisticamente similares às da etapa III (~22 mg·L<sup>-1</sup>) (p = 0,579), resultando em uma eficiência média de 93,2 % (Tabela 5.2). Para essa eficiência, era esperado que apenas 86,8% da DQO removida fosse utilizada pela metanogênese, produzindo um volume teórico de metano próximo a 0,334 L·g DQO<sub>rem</sub><sup>-1</sup> a 1 atm e 27 °C (Figura 5.3). Porém, em relação à etapa III, não se observou diferença significativa na produção de metano (p = 1,000), cujo valor médio foi aproximadamente 1,5 vez maior do que o valor teórico calculado (Tabela 5.2). Portanto, mais uma vez, não se evidenciaram sinais de inibição pelo sulfeto produzido na etapa IV (~100 mg·L<sup>-1</sup> de sulfeto total e ~30 mg·L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>S).

Jeong *et al.* (2009), entretanto, ao reduzirem a relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de 10 para 5 em seu reator anaeróbio, passaram a observar severa inibição tanto na metanogênese quanto na sulfetogênese, muito provavelmente causada pelo sulfeto produzido (a partir de 2 g·L<sup>-1</sup> de sulfato), já que as eficiências de remoção DQO e de redução de sulfato diminuíram de 68 para 30% e de 91 para 74%, respectivamente. Além disso, a produção de metano decresceu de 0,31 para 0,13 L·g DQO<sup>-1</sup> (JEONG *et al.*, 2009).

Na etapa V, em que se diminuiu a relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de 5,2 para 2,4, observou-se um decréscimo gradativo da eficiência de remoção de DQO ao longo do tempo (Figura 5.2), implicando uma redução de 10,8% no seu valor médio ( $p < 0,001$ ) (Tabela 5.2). Embora a DQO média afluyente tenha sido menor do que da etapa anterior ( $p = 0,007$ ) (Tabela 5.2), o que pode ter contribuído para a redução da eficiência, verificou-se uma tendência de aumento dos valores de DQO efluente ao longo da etapa V (Figura 5.2), resultando em uma elevação da sua média de 142 (etapa IV) para 280 mg·L<sup>-1</sup> (etapa V) ( $p < 0,001$ ) (Tabela 5.2).

Entretanto, experimentos em fluxo contínuo com água contaminada com benzeno ou tolueno (2 a 9 mg·L<sup>-1</sup>), na presença de etanol, em RAHLF (TDH = 12 h) suplementado com sulfato (500 mg·L<sup>-1</sup>), sob condições mesofílicas (30 °C), não revelaram diferença no desempenho de remoção de matéria orgânica quando o reator foi submetido a relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de 2 ou 4 (CATTONY *et al.*, 2005; CATTONY *et al.*, 2007).

Quanto à redução de sulfato, mesmo com uma concentração média afluyente superior a 600 mg·L<sup>-1</sup>, não se constatou diferença estatisticamente significativa entre as eficiências das etapas IV e V ( $p = 0,805$ ) (Tabela 5.2). Todavia, a concentração média efluente de sulfato aumentou de 22 para 50 mg·L<sup>-1</sup> ( $p = 0,007$ ) (Tabela 5.2).

A partir desses resultados, sugere-se uma provável inibição inicial por sulfeto no desempenho de remoção de matéria orgânica e de redução de sulfato mesmo para concentrações de H<sub>2</sub>S (43,5 mg·L<sup>-1</sup>) e sulfeto total (~195 mg·L<sup>-1</sup>) inferiores aos valores críticos encontrados para microrganismos metanogênicos e redutores de sulfato (O'FLAHERTY *et al.*, 1998; SPEECE, 2008). Especificamente para as BRS, pode-se ainda considerar a hipótese de sua capacidade de redução de sulfato estar chegando ao seu limite (~290 mg·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) (Tabela 5.2), já que, normalmente, esses microrganismos são mais resistentes à toxicidade por sulfeto do que os metanogênicos (O'FLAHERTY *et al.*, 1998).

Para a eficiência média de redução de sulfato obtida na etapa V, esperava-se que 31,6% da DQO removida fossem atribuídos à rota sulfetogênica, o que disponibilizaria DQO suficiente para uma produção teórica de metano de apenas 0,263 L·g DQO<sub>rem</sub><sup>-1</sup> a 1 atm e 27 °C (Figura 5.3). Entretanto, apesar de a produção média de metano, na etapa V, ter sido

26,2% menor do que na etapa IV ( $p = 0,009$ ), o volume médio de metano obtido ( $0,361 \text{ L}\cdot\text{g DQO}_{\text{rem}}^{-1}$ ) foi bem superior ao esperado ( $0,263 \text{ L}\cdot\text{g DQO}_{\text{rem}}^{-1}$ ) (Figura 5.3), o que corresponderia a 93,9% da DQO removida.

Na etapa VI, diminuiu-se a relação  $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$  de 2,4 para 0,8 – valor próximo ao estequiométrico (0,67), em cuja condição toda a DQO removida seria destinada exclusivamente ao processo de redução de sulfato. Nessa etapa, com uma DQO afluyente similar à da etapa V ( $p = 0,337$ ), o reator apresentou um desempenho de remoção de DQO mais instável, e a eficiência média diminuiu de 81 para 72,5% ( $p = 0,008$ ), resultando, assim, em um aumento da DQO média efluente de 280 para aproximadamente  $390 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $p = 0,006$ ) (Tabela 5.2). Ainda, observou-se, mais uma vez, tendência de aumento dos valores de DQO efluente ao longo da etapa VI (Figura 5.2), comportamento semelhante ao da etapa anterior.

Com relação à redução de sulfato, para concentrações afluyentes de  $1900 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , o reator também apresentou um desempenho bastante instável, alcançando uma eficiência média de apenas 45% (Tabela 5.2). Para tal eficiência, era esperada uma produção teórica de metano de aproximadamente  $0,159 \text{ L}\cdot\text{g DQO}_{\text{rem}}^{-1}$  a 1 atm e  $27^\circ\text{C}$ , o equivalente a 41,2% da DQO removida (Figura 5.3). Embora os testes estatísticos não tenham apontado diferença significativa entre a produção de metano das etapas V e VI ( $p = 0,054$ ), o volume médio de metano produzido diminuiu de  $0,361$  para  $0,283 \text{ L}\cdot\text{g DQO}_{\text{rem}}^{-1}$  (Tabela 5.2). Mesmo assim, a produção média obtida na etapa VI foi quase 80% maior do que a esperada ( $0,159 \text{ L}\cdot\text{g DQO}_{\text{rem}}^{-1}$ ) (Figura 5.3). É válido lembrar que, durante as etapas III a V, a produção de metano medida também foi superior à teórica esperada (Figura 5.3). Muito provavelmente, foi consequência das interferências causadas pelo sulfeto no sistema de medição de biogás (oxidação da eletroválvula e dos eletrodos e deposição de enxofre elementar coloidal).

Nessa etapa, apesar de a capacidade de redução de sulfato ter sido maior do que a da etapa V (Tabela 5.2) – o que reforça a hipótese de inibição inicial levantada anteriormente em oposição à hipótese de limitação da capacidade do inóculo –, os resultados mostram que a inibição por sulfeto ( $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de sulfeto total e  $95 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{S}$ ) se tornou bem mais evidente, principalmente no desempenho de redução de sulfato. De acordo com Speece (2008), apesar de a conversão de substrato por meio de redução de sulfato ser termodinamicamente mais favorável, as BRS que utilizam acetato são mais suscetíveis à inibição por sulfeto do que as arqueias acetoclásticas, o que poderia explicar o fato de a metanogênese continuar mesmo na presença de concentrações de  $\text{H}_2\text{S}$  relativamente elevadas.

Finalmente, na etapa VII, avaliou-se o impacto da redução da carga de co-substrato no desempenho do reator quando submetido a uma relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> próxima ao valor estequiométrico. A concentração de etanol foi diminuída de forma a obter uma DQO média afluente de aproximadamente 300 mg·L<sup>-1</sup> (Tabela 5.2), enquanto a relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> foi mantida próxima a 1,3. Como esperado, devido à menor DQO afluente nessa etapa ( $p < 0,001$ ), menores valores de eficiência de remoção foram alcançados em relação à etapa VI ( $p = 0,003$ ) (Figura 5.2). Contudo, a qualidade do efluente da etapa VII, em termos de DQO, foi bem melhor do que a da etapa anterior ( $p < 0,001$ ), já que foi obtida uma concentração média abaixo de 140 mg·L<sup>-1</sup> (Tabela 5.2). Entretanto, é importante ressaltar que, após 25 dias de operação nessa etapa, observou-se uma diminuição gradativa da eficiência de 71 para aproximadamente 32% em consequência do aumento da DQO efluente de 115 para 220 mg·L<sup>-1</sup> (Figura 5.2). Isso poderia representar uma tendência de colapso do reator devido, muito provavelmente, a um desequilíbrio da comunidade microbiana causado pela redução repentina da quantidade de fonte de carbono disponível, ou seja, o reator passou a operar em condição de escassez de substrato (inanição).

Quanto à redução de sulfato, embora a eficiência média tenha aumentado de 45 para 53% (Tabela 5.2), o reator continuou a mostrar elevada instabilidade, e não se observou diferença estatística no desempenho de redução de sulfato entre as etapas VI e VII ( $p = 0,597$ ). Além disso, apesar de a concentração média afluente de sulfato da etapa VII ter sido bem menor do que a da etapa anterior (~7,4 vezes) ( $p < 0,001$ ) e, inclusive, menor do que a da etapa IV ( $p = 0,004$ ) (Tabela 5.2), o reator não foi capaz de obter novamente uma concentração média efluente de sulfato tão baixa quanto a da etapa IV ( $p < 0,001$ ) ou, até mesmo, a da etapa V ( $p = 0,049$ ) (Tabela 5.2).

É improvável que a instabilidade observada ainda esteja relacionada com a inibição causada pelo sulfeto, já que as concentrações produzidas (45 mg·L<sup>-1</sup> de sulfeto total e 4,7 mg·L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>S) nessa etapa estariam próximas às da etapa III e, portanto, abaixo dos valores inibitórios apresentados em outros trabalhos (HULSHOFF POL *et al.*, 1998; O'FLAHERTY *et al.*, 1998; O'FLAHERTY *et al.*, 1999; SPEECE, 2008). Além disso, a inibição das BRS por sulfeto é reversível (O'FLAHERTY *et al.*, 1998; O'FLAHERTY; COLLERAN, 1999; SPEECE, 2008). Logo, o desempenho de redução de sulfato do reator também pode ter sido afetado pela menor disponibilidade de substrato, que pode ter perturbado o equilíbrio da microbiota ou, até mesmo, aumentado a competição entre os microrganismos metanogênicos e os redutores de sulfato por doador de elétrons.

Por fim, para uma eficiência de redução de sulfato de 53% (Tabela 5.2), esperava-se que, na etapa VII, 50,5% da DQO removida fossem utilizados pela rota metanogênica, sendo responsável por uma produção teórica de metano de  $0,194 \text{ L} \cdot \text{g DQO}_{\text{rem}}^{-1}$  a 1 atm e 27 °C (Figura 5.3). Porém, devido à limitação do sistema de medição de gás utilizado, não foi possível registrar o volume de biogás produzido a partir de uma DQO afluyente tão baixa quanto  $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

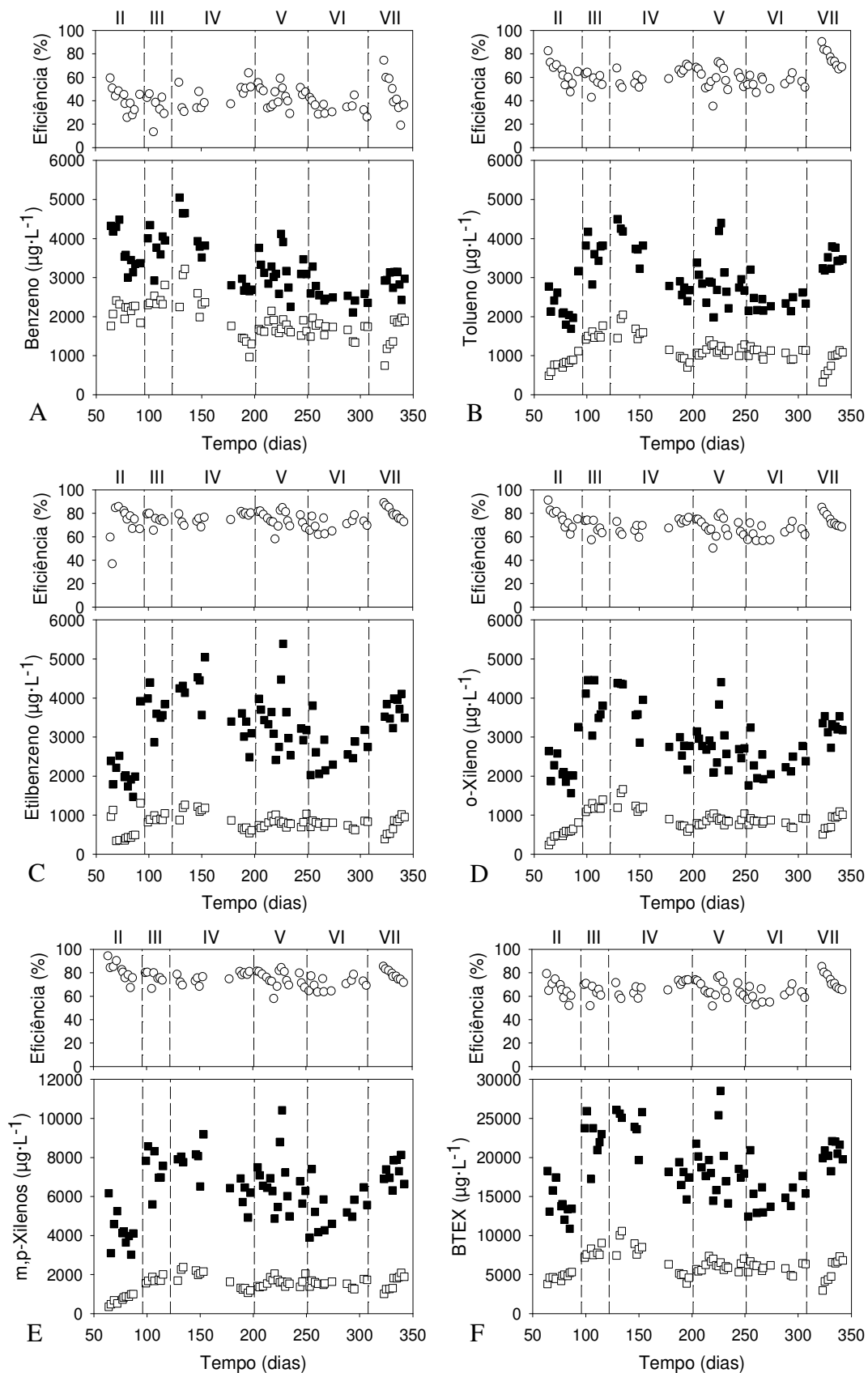
### 5.3.2 Remoção de BTEX

Verificada a sua estabilidade operacional durante o período de aclimação (etapa I), o reator passou a ser alimentado com BTEX (etapa II). Para todos os compostos, maiores eficiências de remoção foram obtidas no início da etapa ( $> 50\%$  para o benzeno,  $> 70\%$  para o tolueno e  $> 80\%$  para os demais compostos), as quais diminuiriam ao longo do tempo (Figura 5.4). Devido à alta volatilidade dos compostos BTEX, foi bastante difícil manter suas concentrações afluentes constantes durante todo o experimento. Especificamente para a etapa II, as concentrações afluentes apresentaram um comportamento similar ao observado para as eficiências de remoção (Figura 5.4), o que pode ter contribuído, portanto, para a redução dos valores de eficiência ao longo da etapa.

Entretanto, também se observou, embora de forma menos evidente para o benzeno, uma tendência de aumento das concentrações efluentes dos compostos BTEX ao longo da etapa II (Figura 5.4). Logo, é bastante provável que as eficiências mais elevadas, registradas no início do experimento, tenham sido alcançadas, em parte, devido à adsorção inicial dos compostos na manta de lodo, cuja saturação parece ter sido atingida após o dia 78 de operação (Figura 5.4).

Em termos de eficiência média de remoção, o maior valor foi obtido para os isômeros m- e p-xilenos (81%), seguidos, em ordem decrescente, pelos compostos o-xileno, etilbenzeno, tolueno e, finalmente, benzeno (com apenas 41%) (Tabela 5.3), estando de acordo com os resultados reportados no capítulo 4. Conforme discutido no mesmo capítulo, já era esperado que as menores eficiências fossem alcançadas para o benzeno. Contudo, embora também se acreditasse que o tolueno seria o composto mais facilmente removido, sua eficiência média de remoção foi a segunda mais baixa (Tabela 5.3). Portanto, evidenciou-se, mais uma vez, que não há uma regra geral para prever a ordem de preferência na degradação de uma mistura de BTEX, especialmente em consórcios microbianos com uma maior complexidade.

Figura 5.4 – Concentrações afluentes e efluentes e eficiências de remoção de benzeno (a), tolueno (b), etilbenzeno (c), o-xileno (d), m,p-xilenos (e) e BTEX (f).



■, Concentração afluente; □, concentração efluente; ○; eficiência de remoção.



Tabela 5.3 – Desempenho operacional do reator em termos de remoção dos compostos BTEX (continua).

<b>Etapa</b>		<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>	<b>VII</b>
<b>Etanol (g·L<sup>-1</sup>)</b>		0,70	0,87	0,78	0,70	0,66	0,12
<b>DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup></b>		-	12,2	5,2	2,4	0,8	1,3
<b>BTEX</b>	Afluente (µg·L <sup>-1</sup> )	14212 (2314)	22372 (2750)	21083 (4047)	19089 (3722)	15194 (2395)	20583 (1241)
	Efluente (µg·L <sup>-1</sup> )	4694 (462)	7859 (625)	7026 (2196)	6205 (612)	5856 (602)	5563 (1522)
	TR (µg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	4759 (1338)	7257 (1518)	7029 (1208)	6442 (1910)	4669 (1106)	7510 (724)
	Eficiência (%)	65,9 (8,0)	64,2 (6,6)	67,2 (5,8)	66,4 (7,2)	60,9 (5,6)	73,1 (6,8)
<b>B</b>	Afluente (µg·L <sup>-1</sup> )	3702 (522)	3807 (456)	3536 (854)	3181 (479)	2548 (283)	2916 (233)
	Efluente (µg·L <sup>-1</sup> )	2138 (208)	2439 (183)	2009 (703)	1740 (171)	1661 (192)	1567 (434)
	TR (µg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	782 (284)	684 (265)	763 (217)	721 (230)	444 (102)	675 (258)
	Eficiência (%)	41,2 (10,2)	34,9 (11,2)	44,1 (10,2)	44,4 (8,4)	34,6 (5,8)	45,8 (16,7)
<b>T</b>	Afluente (µg·L <sup>-1</sup> )	2253 (446)	3638 (426)	3348 (720)	2940 (633)	2401 (298)	3451 (222)
	Efluente (µg·L <sup>-1</sup> )	789 (166)	1539 (120)	1329 (437)	1154 (114)	1060 (116)	830 (290)
	TR (µg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	732 (232)	1050 (234)	1010 (198)	893 (325)	670 (127)	1311 (119)
	Eficiência (%)	63,8 (9,9)	57,0 (7,4)	61,0 (6,8)	59,1 (9,8)	55,6 (4,9)	76,2 (7,8)
<b>E</b>	Afluente (µg·L <sup>-1</sup> )	2175 (650)	3676 (476)	3791 (727)	3416 (748)	2642 (515)	3701 (290)
	Efluente (µg·L <sup>-1</sup> )	612 (349)	917 (76)	920 (269)	817 (111)	767 (79)	741 (225)
	TR (µg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	782 (265)	1380 (254)	1436 (262)	1300 (392)	938 (250)	1480 (134)
	Eficiência (%)	71,7 (14,2)	74,6 (4,8)	76,0 (4,2)	74,9 (7,0)	70,1 (5,7)	80,1 (5,6)
<b>o-X</b>	Afluente (µg·L <sup>-1</sup> )	2205 (468)	3849 (527)	3310 (764)	2846 (587)	2314 (413)	3249 (245)
	Efluente (µg·L <sup>-1</sup> )	522 (155)	1213 (104)	1035 (347)	873 (100)	826 (84)	834 (203)
	TR (µg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	841 (233)	1318 (292)	1137 (243)	987 (305)	744 (194)	1208 (144)
	Eficiência (%)	75,5 (8,1)	67,8 (6,4)	69,2 (5,3)	68,1 (7,7)	63,5 (5,9)	74,3 (6,0)

Tabela 5.3 – Desempenho operacional do reator em termos de remoção dos compostos BTEX (conclusão).

<b>Etapa</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>	<b>VII</b>
<b>Etanol (g·L<sup>-1</sup>)</b>	0,70	0,87	0,78	0,70	0,66	0,12
<b>DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup></b>	-	12,2	5,2	2,4	0,8	1,3
<b>m,p-X</b>						
Afluente (µg·L <sup>-1</sup> )	4217 (949)	7401 (671)	7099 (1193)	6705 (1395)	5289 (1017)	7266 (614)
Efluente (µg·L <sup>-1</sup> )	736 (222)	1751 (149)	1734 (468)	1621 (222)	1542 (160)	1593 (381)
TR (µg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	1741 (550)	2825 (539)	2683 (433)	2542 (736)	1873 (484)	2837 (251)
Eficiência (%)	81,3 (7,8)	75,8 (5,0)	75,8 (4,2)	74,7 (7,0)	70,1 (5,3)	78,2 (4,6)

B, benzeno; T, tolueno; E, etilbenzeno; o-X, orto-xileno; m,p-X, meta- e para-xilenos; TR; taxa de remoção.

O desvio padrão é exibido entre parênteses.

Na etapa III, com a introdução do acceptor de elétrons sulfato (relação  $DQO/SO_4^{2-}$  de aproximadamente 12), embora as eficiências médias de remoção dos compostos aromáticos, de maneira geral, tenham diminuído (Tabela 5.3), não se observou diferença estatisticamente significativa em relação à etapa anterior ( $0,078 \leq p \leq 397$ ), exceto para o o-xileno ( $p = 0,037$ ). Contudo, a partir desses resultados, é difícil inferir o impacto do acceptor de elétrons no desempenho de remoção de BTEX do reator, já que, com exceção do benzeno ( $p = 0,587$ ), maiores concentrações afluentes foram observadas na etapa III ( $p \leq 0,003$ ), o que, conseqüentemente, levou a um aumento das concentrações efluentes de todos os compostos BTEX ( $p \leq 0,003$ ) (Figura 5.4). Mesmo assim, exceto para o benzeno ( $p = 0,651$ ), foram registradas maiores taxas médias de remoção para todos os compostos ( $0,002 \leq p \leq 0,024$ ) (Tabela 5.3) apesar de não ser possível atribuir esse aumento à adição de sulfato ou a uma provável adaptação da microbiota aos BTEX.

Embora a redução de sulfato e a metanogênese ocorram em condições redox similares (Tabela 5.4) (FOGHT, 2008; FOWLER *et al.*, 2012), estudos mostram que a degradação anaeróbia de BTEX é estimulada pela adição de sulfato como acceptor alternativo de elétrons, e, conseqüentemente, elevadas eficiências de remoção podem ser alcançadas (ANDERSON; LOVLEY, 2000; CUNNINGHAM *et al.*, 2000; DA SILVA; RUIZ-AGUILAR; ALVAREZ, 2005; PHELPS; YOUNG, 1999). No entanto, Fernandes *et al.* (2006), durante o tratamento de água contaminada com gasolina, contendo os compostos aromáticos benzeno ( $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), tolueno ( $6,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e m-xileno ( $3,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), em um RAHLF mesofílico ( $27 \text{ }^\circ\text{C}$ ) operado com um TDH de 16 h, relataram que a adição de  $3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  de sulfato (relação  $DQO/SO_4^{2-}$  de 1,2) afetou negativamente as taxas de remoção de BTX, o que, segundo os autores, pode ter sido causado por uma provável inibição pelo sulfeto produzido.

Na etapa IV, foi aplicada uma relação  $DQO/SO_4^{2-}$  de 5,2 ao reator. Porém, para todos os hidrocarbonetos aromáticos, tanto o desempenho de remoção ( $0,113 \leq p \leq 0,874$ ) quanto a qualidade do efluente ( $p \geq 0,132$ ) permaneceram estatisticamente semelhantes aos da etapa III (Figura 5.4). Ainda, embora os valores das concentrações afluentes tenham diminuído acentuadamente ao longo do tempo, as concentrações efluentes seguiram o mesmo comportamento, o que proporcionou uma boa estabilidade em termos de eficiência de remoção (Figura 5.4).

Posteriormente, com a redução da relação  $DQO/SO_4^{2-}$  de 5,2 para 2,4 (etapa V), não se verificaram, mais uma vez, diferenças estatísticas entre os valores das eficiências de remoção ( $p \geq 0,742$ ) e das concentrações efluentes ( $0,392 \leq p \leq 0,645$ ) de todos os compostos BTEX obtidos nas etapas IV e V (Figura 5.4). Todavia, percebeu-se uma maior instabilidade

das eficiências de remoção em relação à etapa anterior (Figura 5.4). Na verdade, tal comportamento é, provavelmente, decorrente da maior flutuação das concentrações afluentes e não de uma possível inibição pelo sulfeto produzido, já que o efluente se manteve bastante estável durante toda a etapa experimental (Figura 5.4). Portanto, ao contrário do observado para a remoção de DQO e para a redução de sulfato (seção 5.3.1), a remoção dos compostos aromáticos parece não ter sido afetada pela maior produção de sulfeto durante a etapa V.

Tabela 5.4 – Estequiometria e termodinâmica da degradação anaeróbia de benzeno, tolueno e xilenos sob condições sulfetogênicas e metanogênicas.

Substrato	Reação	$\Delta G^0$ (kJ·mol <sup>-1</sup> )
Benzeno	$C_6H_6 + 3H_2O + 3,75SO_4^{2-} \rightarrow 6HCO_3^- + 1,88H_2S + 1,88HS^- + 0,38H^+$	-200
	$C_6H_6 + 6,75H_2O \rightarrow 2,25HCO_3^- + 3,75CH_4 + 2,25H^+$	-116
Tolueno	$C_7H_8 + 4,5SO_4^{2-} + 3H_2O \rightarrow 7HCO_3^- + 4,5HS^- + 2,5H^+$	-205
	$C_7H_8 + 7,5H_2O \rightarrow 4,5CH_4 + 2,5HCO_3^- + 2,5H^+$	-131
Xilenos	$C_8H_{10} + 5,25SO_4^{2-} + 3H_2O \rightarrow 8HCO_3^- + 2,625HS^- + 2,625H_2S + 0,125H^+$	-64
	$C_8H_{10} + 8,25H_2O \rightarrow 5,25CH_4 + 2,75HCO_3^- + 2,75H^+$	-169

Fonte: Foght (2008).

Concordando com os resultados apresentados, experimentos em fluxo contínuo com um RAHLF (TDH = 12 h) mesofílico (30 °C), suplementado com sulfato (500 mg·L<sup>-1</sup>), durante o tratamento de água contaminada com benzeno ou tolueno (2 a 9 mg·L<sup>-1</sup>), utilizando etanol como co-substrato, não revelaram diferença no desempenho de remoção desses hidrocarbonetos aromáticos quando relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de 2 ou 4 foram aplicadas (CATTONY *et al.*, 2005; CATTONY *et al.*, 2007).

Na etapa VI, quando o reator passou a ser submetido a uma relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de 0,8, observou-se uma redução das eficiências médias de remoção de todos os hidrocarbonetos aromáticos em relação à etapa V (Tabela 5.3). Contudo, é bastante provável que esse decréscimo esteja associado às menores concentrações afluentes de BTEX registradas durante a etapa VI ( $p \leq 0,010$ ) (Figura 5.4) e não ao aumento da concentração afluyente de acceptor de elétrons (Tabela 5.2), já que não houve mudança da qualidade do efluente para tais compostos aromáticos ( $0,090 \leq p \leq 0,626$ ), a qual se manteve bastante estável durante toda a etapa (Figura 5.4). Mesmo assim, a redução da eficiência de remoção foi considerada

estatisticamente significativa apenas para o benzeno ( $p = 0,004$ ), enquanto, para os demais compostos, permaneceu a mesma entre as etapas V e VI ( $0,054 \leq p \leq 0,227$ ).

Ainda, especificamente para o etilbenzeno e os isômeros do xileno, houve um aumento das concentrações afluentes ao longo da etapa VI, enquanto os efluentes mantiveram-se constantes (Figura 5.4). Consequentemente, os valores de eficiência apresentaram o mesmo padrão de variação observado para o afluente (Figura 5.4), reforçando, assim, a hipótese de que a maior concentração afluente de sulfato provavelmente não afetou o desempenho de remoção de BTEX.

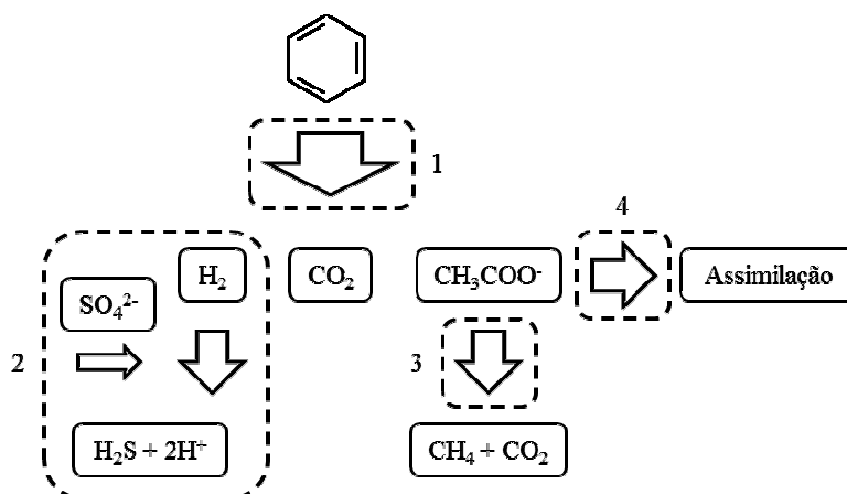
De modo geral, a adição de sulfato em diversas relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (etapas III a VI) não alterou o desempenho de remoção de BTEX do reator. Além disso, o padrão de remoção desses hidrocarbonetos permaneceu o mesmo durante as quatro etapas, ou seja, as maiores eficiências foram alcançadas para o etilbenzeno e os isômeros m- e p-xilenos, seguidos, em ordem decrescente, pelos compostos o-xileno, tolueno e benzeno (Tabela 5.3). Logo, os resultados sugerem que, muito provavelmente, as BRS não estavam envolvidas no ataque inicial aos BTEX.

Conforme mencionado no capítulo 4, sob condições metanogênicas, consórcios microbianos degradam hidrocarbonetos aromáticos, tais como benzeno e tolueno, por meio de interações sintróficas entre diferentes microrganismos. Assim, devido a essa sintrofia essencial em comunidades metanogênicas, é difícil isolar espécies capazes de degradar BTEX, já que, a partir do ataque inicial a esses compostos, tais microrganismos, provavelmente, não obtêm energia suficiente sem a participação de parceiros sintróficos para tornar a reação termodinamicamente favorável (FOGHT, 2008). Por outro lado, é possível isolar culturas puras redutoras de sulfato capazes de utilizar BTEX como única fonte de carbono e energia, como, por exemplo, *Desulfobacula toluolica*, *Desulfosarcina cetonica* e *Desulfotignum toluenicum* (CUPPLES, 2011; FOGHT, 2008; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010), já que as BRS podem usar uma grande variedade de substratos doadores de elétrons, incluindo compostos aromáticos (como, por exemplo, benzoato, fenol e hidrocarbonetos) (LIAMLEAM; ANNACHHATRE, 2007; MUYZER; STAMS, 2008).

Entretanto, em consórcios microbianos sob condições sulfetogênicas, embora as reações de degradação de BTEX possam ser conduzidas por um único redutor de sulfato, é muito mais provável que aconteçam por meio de relações sintróficas em que o sulfato atua comoceptor final de elétrons (RAKOCZY *et al.*, 2011). De fato, estudos sugerem que a degradação de benzeno, por exemplo, envolve a cooperação sintrófica entre bactérias fermentativas, as quais geram hidrogênio e acetato como intermediários, BRS

hidrogenotróficas, arqueias acetoclásticas e, provavelmente, outros microrganismos consumidores de acetato (Figura 5.5) (Tabela 5.5) (HERRMANN *et al.*, 2010; KLEINSTEUBER *et al.*, 2008; RAKOCZY *et al.*, 2011; VAN DER ZAAAN *et al.*, 2012). Não foram encontradas informações, na literatura, sobre a atuação de BRS acetoclásticas ou arqueias hidrogenotróficas durante o processo sintrófico de degradação de BTEX.

Figura 5.5 – Rota metabólica simplificada da degradação anaeróbia sintrófica de benzeno sob condições sulfetogênicas.



1, Bactérias fermentativas (*Cryptanaerobacter/Pelotomaculum*); 2, bactérias redutoras de sulfato; 3, arqueias acetoclásticas (*Methanosaeta*); 4, outros microrganismos consumidores de acetato (*Epsilonproteobacterium*).  
Fonte: adaptado de Vogt, Kleinsteuber e Richnow (2011).

Tabela 5.5 – Estequiometria e termodinâmica das rotas metabólicas da degradação anaeróbia sintrófica de benzeno sob condições sulfetogênicas.

Nº. da equação	Reação	$\Delta G^0$ (kJ·mol <sup>-1</sup> )
1	$C_6H_6 + 6H_2O \rightarrow 3CH_3COO^- + 3H^+ + 3H_2$	72,3
2	$3CH_3COO^- + 3H^+ \rightarrow 3CO_2 + 3CH_4$	-107,5
3	$3H_2 + 0,75SO_4^{2-} + 1,125H^+ \rightarrow 3H_2O + 0,375HS^- + 0,375H_2S$	-116,3
4 (global)	$C_6H_6 + 3H_2O + 0,75SO_4^{2-} + 1,125H^+ \rightarrow 3CO_2 + 3CH_4 + 0,375HS^- + 0,375H_2S$	-151,5

Fonte: Corseuil *et al.* (2011); Kleinsteuber *et al.* (2008).

Portanto, acredita-se que, no reator utilizado durante a presente investigação, a degradação inicial de BTEX seria, muito provavelmente, resultado da ação de microrganismos fermentativos, enquanto as BRS prefeririam utilizar o hidrogênio produzido não somente a partir da degradação desses compostos aromáticos, mas, sobretudo, do co-substrato etanol em excesso, justificando, assim, a não alteração do desempenho de remoção

de BTEX mesmo quando altas concentrações de sulfato eram aplicadas. Caso contrário, com a elevação da concentração afluenta desse acceptor de elétrons e, conseqüentemente, com o crescimento das BRS, as eficiências de remoção de BTEX teriam aumentado.

Finalmente, na etapa VII, a relação  $DQO/SO_4^{2-}$  foi mantida próxima à estequiométrica (~1,3), enquanto a carga de co-substrato foi reduzida (em aproximadamente 7 vezes) de forma a avaliar seu impacto na remoção anaeróbia de BTEX, já que o etanol é preferencialmente degradado em relação a esses compostos sob diversas condições redox (aeróbia, desnitrificante, sulfetogênica e metanogênica) conforme informado no capítulo 4.

No início da etapa, observou-se uma elevação quase imediata da eficiência de remoção de todos os compostos BTEX, notadamente para o benzeno e o tolueno (Figura 5.4), mesmo para maiores concentrações afluentes ( $p \leq 0,009$ ) (Tabela 5.3). Portanto, assim como observado sob condições metanogênicas (capítulo 4), aparentemente, a escassez de etanol, favoreceu a degradação de BTEX por razões já mencionadas.

Mesmo quando altas concentrações de etanol eram utilizadas (etapas II a VI), a remoção de BTEX ocorreu de forma razoável (35 a 80%). Portanto, também sob condições sulfetogênicas, supõe-se que a microbiota do reator poderia conter populações com afinidade específica aos BTEX, as quais seriam, provavelmente, responsáveis pelo ataque inicial a esses hidrocarbonetos. Ainda em concordância com o capítulo 4, sugere-se que algumas populações microbianas, responsáveis pela fermentação inicial de etanol, também fossem capazes de iniciar a degradação de BTEX. Assim, devido à escassez de um substrato mais facilmente degradável, tais microrganismos teriam passado a degradar mais ativamente os hidrocarbonetos aromáticos.

Contudo, ao longo da etapa VII, as concentrações efluentes aumentaram, o que levou a um decréscimo gradual das eficiências para valores próximos aos obtidos na etapa VI (Figura 5.4). Esse comportamento poderia ser consequência de um desequilíbrio da comunidade microbiana, causado pela redução repentina da quantidade de fonte de carbono disponível. Porém, a partir da metade da etapa VII, percebeu-se uma tendência de estabilização das concentrações efluentes de todos os compostos (Figura 5.4) embora não seja possível afirmar seguramente se a microbiota estaria atingindo um novo equilíbrio, já que, devido ao desempenho de remoção de DQO do reator (seção 5.3.1), o experimento foi encerrado prematuramente.

Mesmo assim, exceto para o benzeno ( $p = 0,076$ ), as eficiências de remoção de BTEX dessa última etapa experimental foram consideradas estatisticamente superiores às da

etapa VI ( $p \leq 0,006$ ), enquanto suas concentrações efluentes não apresentaram diferença estatística ( $0,082 \leq p \leq 0,804$ ) (Tabela 5.3).

Conforme mencionado no capítulo 4, esporadicamente, foram feitas análises de BTEX no biogás. Durante todo o experimento, observou-se a presença desses hidrocarbonetos aromáticos no biogás, ou seja, provavelmente, uma fração desses compostos estava sendo removido por volatilização. Entretanto, a metodologia empregada não permitia a quantificação de BTEX em amostras gasosas. Portanto, a partir de tais análises, não foi possível verificar o impacto do aumento da concentração afluente de sulfato ou da redução da carga de co-substrato na remoção de BTEX por volatilização. Contudo, como não houve uma correlação entre produção de biogás e eficiência de remoção de BTEX, possivelmente a perda por volatilização era negligenciável.

Por fim, ressalta-se a importância de um pós-tratamento para a remoção das concentrações residuais de BTEX de forma a atender aos padrões de qualidade de água potável estabelecidos pelas legislações ambientais. Além disso, seria muito importante a realização de análises de microbiologia molecular para o esclarecimento da dinâmica populacional durante o processo de degradação dos compostos em estudo, possibilitando a confirmação de algumas hipóteses levantadas no presente estudo.

## 5.4 Conclusões

O reator anaeróbio sulfetogênico alcançou eficiências médias de remoção de BTEX que, dependendo do composto, variaram de 34 a 82% durante todo o experimento. Enquanto as maiores eficiências foram alcançadas para os compostos etilbenzeno e m- e p-xilenos ( $> 70\%$ ), o benzeno foi o composto mais recalcitrante, com eficiências médias inferiores a 46%.

A adição de sulfato em diversas relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> não alterou o desempenho de remoção de BTEX do reator. Entretanto, uma provável inibição do desempenho de remoção de DQO foi observada para relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> abaixo de 5.

A redução da carga de etanol teve um impacto positivo nas remoções de BTEX, notadamente para o benzeno e o tolueno, reforçando a hipótese de degradação sintrófica no sistema avaliado.



## 6 TRATAMENTO DE ÁGUAS SINTÉTICAS CONTAMINADAS COM BTEX EM REATOR SOB CONDIÇÕES ANAERÓBIAS E MICROAERÓBIAS

### 6.1 Introdução

Hidrocarbonetos monoaromáticos, tais como benzeno, tolueno, etilbenzeno e os isômeros do xileno (BTEX), são importantes constituintes do petróleo bruto e de seus derivados (WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010). De fato, esses compostos podem corresponder a até aproximadamente 18%, em massa, de uma mistura padrão de gasolina (JO *et al.*, 2008a). Portanto, a partir do vazamento acidental de tubulações e tanques de armazenamento subterrâneos de combustíveis fósseis, os BTEX – os quais possuem solubilidade e mobilidade em água relativamente alta – podem contaminar extensivamente solos e aquíferos subterrâneos, comprometendo fontes de água potável (DOU; LIU; HU, 2008; DOU *et al.*, 2008) e representando, assim, um sério problema ambiental e de saúde pública devido à elevada toxicidade e ao potencial carcinogênico desses compostos (FOGHT, 2008; JO *et al.*, 2008a; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010).

Além disso, no Brasil, etanol é adicionado à gasolina (20-25%, em volume) de forma a atenuar as emissões atmosféricas automotivas prejudiciais. Entretanto, isso pode agravar o problema de contaminação de aquíferos subterrâneos, já que o etanol pode exercer um efeito de co-solvência, aumentando a solubilidade em água dos BTEX e, conseqüentemente, resultando em concentrações mais elevadas (CORSEUIL *et al.*, 2011).

Entre as várias tecnologias de remediação, *in situ* ou *ex situ*, disponíveis para o tratamento de águas contaminadas com BTEX, os processos biológicos (ou biorremediação) têm se destacado por serem econômicos, eficientes e ambientalmente corretos (FARHADIAN *et al.*, 2008). De fato, microrganismos são capazes de degradar BTEX sob condições aeróbias, microaeróbias (ou hipóxicas) e anaeróbias (FUCHS, 2008; JO *et al.*, 2008a; SHIM *et al.*, 2005; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010; YERUSHALMI *et al.*, 2001; YERUSHALMI; LASCOURREGES; GUIOT, 2002).

A biorremediação *ex situ* por meio de reatores anaeróbios tem sido utilizada com sucesso no tratamento de águas contaminadas com poluentes químicos ou orgânicos, incluindo os BTEX. Entretanto, alguns parâmetros operacionais, tais como concentração afluente de poluentes, carga orgânica volumétrica, presença de aceptores alternativos de elétrons e outros, podem influenciar no desempenho de degradação desses compostos (FARHADIAN *et al.*, 2008).

Por exemplo, a adição de baixas concentrações de oxigênio pode favorecer a degradação inicial dos compostos BTEX, pois, sob condições microaeróbias, alguns microrganismos podem utilizar oxigênio para introduzir grupos hidroxila no anel aromático como nas rotas aeróbias clássicas, facilitando posteriormente sua clivagem por meio de rotas metabólicas anaeróbias (FUCHS, 2008). Entretanto, os experimentos, em batelada ou em fluxo contínuo, de degradação microaeróbia de BTEX encontrados na literatura tem utilizado apenas culturas aeróbias adaptadas a baixas concentrações de oxigênio (SHIM; YANG, 1999; SHIM; SHIN; YANG, 2002; SHIM; YANG, 2002; YERUSHALMI *et al.*, 2001; YERUSHALMI; LASCOURREGES; GUIOT, 2002). Assim, faz-se necessária a avaliação de processos microaeróbios na degradação de BTEX, principalmente com inóculos anaeróbios operados em condições microaeróbias.

Outro fator importante é a presença de etanol em águas contaminadas com BTEX a partir de vazamentos de tanques de gasolina. Estudos mostram que esse composto é preferencialmente degradado em relação aos BTEX sob diversas condições redox (aeróbia, desnitrificante, sulfetogênica e metanogênica), dificultando, assim, o seu processo de degradação (CHEN; BARKER; GUI, 2008; CORSEUIL *et al.*, 1998; CORSEUIL *et al.*, 2011; DA SILVA; RUIZ-AGUILAR; ALVAREZ, 2005). Além disso, acetato e hidrogênio – possíveis intermediários da degradação sintrófica de BTEX – podem ser produzidos a partir da digestão anaeróbia de etanol. Logo, a degradação de elevadas concentrações desse co-substrato pode resultar em um acúmulo transiente de acetato e hidrogênio, o que, provavelmente, inibiria a degradação sintrófica de BTEX, já que o processo passaria a ser energeticamente desfavorável (EDWARDS; GRBIĆ-GALIĆ, 1994; RAKOCZY *et al.*, 2011).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar e comparar o desempenho de remoção de BTEX em reator biológico submetido a altas e baixas concentrações de co-substrato (etanol) sob condições anaeróbias e microaeróbias.

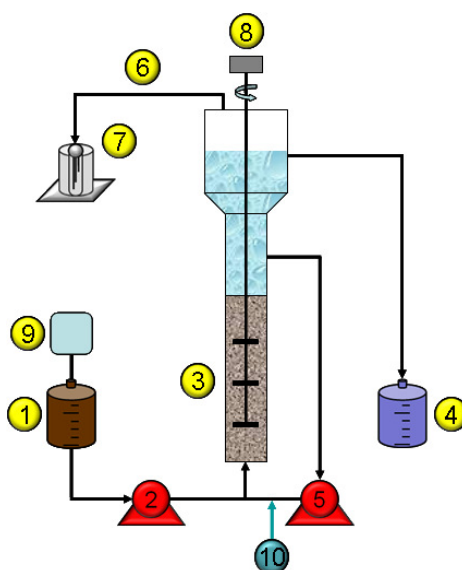
## **6.2 Material e métodos**

### **6.2.1 Sistema experimental**

O experimento em fluxo contínuo foi realizado no mesmo reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB, *up-flow anaerobic sludge blanket*), em escala laboratorial (volume útil de 3,3 L), feito a partir de tubos e conexões de PVC para esgoto (Figura 6.1), utilizado no experimento apresentado no capítulo 4, ou seja, um reator

previamente adaptado aos compostos BTEX. Utilizou-se como inóculo lodo anaeróbio ( $\sim 50 \text{ g SSV} \cdot \text{L}^{-1}$ ) de um reator de circulação interna (IC, *internal circulation*) mesofílico de uma cervejaria (Horizonte, Ceará, Brasil), cuja atividade metanogênica específica (AME) foi  $0,63 \text{ g DQO (glicose)} \cdot \text{g SSV}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ .

Figura 6.1 – Configuração do sistema experimental utilizado na remoção de BTEX sob condições anaeróbias e microaeróbias.



1, afluente; 2, bomba peristáltica (alimentação); 3, reator UASB; 4, efluente; 5, bomba dosadora (recirculação); 6, biogás; 7, medidor de gás; 8, homogeneizador; 9, bolsa de Tedlar® ( $\text{N}_2$ ); 10, sistema de introdução de ar (bomba peristáltica).

A fim de evitar a formação de caminhos preferenciais ou curtos-circuitos através da manta de lodo e facilitar a liberação do biogás, evitando o efeito pistão (elevação da manta de lodo causada pelo biogás aprisionado), um homogeneizador (5 rpm) foi instalado no reator (LEITÃO, 2004).

O afluente era armazenado a aproximadamente  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  em um recipiente de PVC (volume total de 7 L) provido de uma atmosfera de  $\text{N}_2$  (100%, White Martins, Brasil), a partir de uma bolsa de Tedlar® para amostragem de gás (Supelco, EUA), a fim de evitar a volatilização de BTEX dentro do recipiente e minimizar o contato do afluente com o  $\text{O}_2$  do ar.

O reator era alimentado por meio de bomba peristáltica (Minipuls 3, Gilson, EUA) através de tubos flexíveis de Tygon® *Fuel and Lubricant* (Cole-Parmer, EUA) – material inerte aos compostos aromáticos testados – e operado à temperatura ambiente de aproximadamente  $27 \text{ }^\circ\text{C}$ .

O efluente era recirculado por meio de bomba dosadora (Concept Plus, ProMinent Dosiertechnik GmbH, Alemanha), e, em algumas etapas experimentais, um sistema de microaeração era aplicado ao reator por meio de bomba peristáltica (Minipuls 3, Gilson, EUA). O biogás produzido era coletado e medido por um medidor de gás previamente calibrado (método de deslocamento de líquido).

### **6.2.2 Água contaminada sintética**

A água contaminada sintética consistia de uma solução aquosa contendo BTEX, ou seja, benzeno (99,5%, Dinâmica Química, Brasil), tolueno (99,5%, Vetec, Brasil), etilbenzeno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA), o-xileno (98,0%, Fluka, EUA), m-xileno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA) e p-xileno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA), um co-substrato, meio basal (macro e micronutrientes) e um tampão. O co-substrato era o etanol (99,8%, Dinâmica, Brasil), e o meio basal era preparado de acordo com Firmino *et al.* (2010). Para manter o pH próximo a 7,0, a solução era tamponada com bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) na proporção de 1 g de  $\text{NaHCO}_3$  para cada 1 g DQO. Todos os reagentes foram utilizados como adquiridos, sem purificação adicional.

### **6.2.3 Procedimento experimental**

O experimento com água contaminada com BTEX ( $\sim 3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cada composto) foi dividido em quatro etapas (Tabela 6.1). Na etapa I, o reator foi suplementado com etanol de forma a obter uma DQO total de aproximadamente  $1,6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Posteriormente, a fim de investigar o efeito da carga do co-substrato na remoção anaeróbia dos hidrocarbonetos aromáticos, a concentração de etanol foi diminuída para aproximadamente  $0,3 \text{ g DQO}\cdot\text{L}^{-1}$  (etapa II). Em seguida, após um intervalo de 20 dias para a configuração do sistema de microaeração, ainda submetido a baixa carga de etanol ( $0,3 \text{ g DQO}\cdot\text{L}^{-1}$ ), o reator passou a ser operado sob condições microaeróbias, ou seja, uma vazão de  $1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  de ar atmosférico a  $27 \text{ }^\circ\text{C}$  e 1 atm (o equivalente a  $12,3 \text{ mmol O}_2\cdot\text{dia}^{-1}$ ) foi introduzida no sistema junto à recirculação de efluente na entrada do reator (etapa III). Tal vazão foi estipulada, a partir de Lopes (2010), para garantir baixas concentrações de oxigênio no líquido, pois, no referido trabalho, ao ser aplicada uma vazão de  $18,4 \text{ mmol O}_2\cdot\text{dia}^{-1}$  em reatores anaeróbios, operados sob condições microaeróbias, durante a remoção de  $\text{H}_2\text{S}$  de águas residuárias ricas em sulfato, não foram detectadas concentrações de oxigênio no líquido superiores a  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Finalmente, na etapa IV, avaliou-se o impacto da microaeração na remoção de BTEX quando o reator foi submetido a alta carga de etanol (2,1 g DQO·L<sup>-1</sup>). A transição entre as diversas etapas foi feita após a verificação da estabilidade (variação de até 10%) da concentração efluente de BTEX nos três últimos pontos analisados (equivalente a uma semana de operação).

Tabela 6.1 – Parâmetros operacionais do reator sob condições anaeróbias e microaeróbias.

<b>Etapa<sup>a</sup></b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
Fim da etapa (dia)	22	57	99	130
TDH (h)	48	48	48	48
DQO total (g·L <sup>-1</sup> )	1,6	0,3	0,3	2,1
Etanol (g·L <sup>-1</sup> )	0,76	0,11	0,12	0,96
BTEX (mg·L <sup>-1</sup> )	16,1	19,5	15,8	16,3
Benzeno (mg·L <sup>-1</sup> )	2,6	3,0	2,2	2,5
Tolueno (mg·L <sup>-1</sup> )	2,5	3,3	2,5	2,6
Etilbenzeno (mg·L <sup>-1</sup> )	2,8	3,5	3,0	2,8
o-Xileno (mg·L <sup>-1</sup> )	2,4	3,0	2,6	2,6
m,p-Xilenos <sup>b</sup> (mg·L <sup>-1</sup> )	5,7	6,8	5,6	5,7
Recirculação (L·h <sup>-1</sup> )	0,7	0,7	0,7	0,7
Microaeração (mL·min <sup>-1</sup> )	-	-	1,0	1,0

TDH, tempo de detenção hidráulica; DQO, demanda química de oxigênio.

<sup>a</sup>As etapas I e II são as etapas V e VI apresentadas no capítulo 4. A etapa III iniciou-se no 77º dia de operação após configuração do sistema de microaeração.

<sup>b</sup>Os isômeros meta- e para-xilenos foram quantificados juntos devido à limitação do método cromatográfico.

#### 6.2.4 Análises químicas e cromatográficas

DQO e pH eram determinados de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005), enquanto os ácidos graxos voláteis (AGV), pelo método titulométrico de Kapp (BUCHAUER, 1998).

Os compostos BTEX eram determinados por extração por *headspace* estático (Triplus HS, Thermo Scientific, USA) seguido de cromatografia gasosa com detecção por fotoionização (HS-GC-PID, *headspace-gas chromatography-photoionization detection*) (Trace GC Ultra, Thermo Scientific, USA) conforme descrito no capítulo 3 (seção 3.2.2.2). Todas as amostras (15 mL) eram previamente diluídas com água ultrapura (Milli-Q system, EMD Millipore, USA) diretamente em *vials* de vidro borossilicato para *headspace* (20 mL)

(Supelco, EUA), os quais eram, em seguida, selados com septos de PTFE/silicone e lacres de alumínio (Supelco, EUA).

A caracterização de biogás foi realizada, em termos de ar ( $O_2 + N_2$ ),  $CO_2$ , e  $CH_4$ , por cromatografia gasosa com detecção por condutividade térmica (GC-TCD, *gas chromatography-thermal conductivity detection*) (GC-17A, Shimadzu Corporation, Japão) conforme descrito no capítulo 4 (seção 4.2.4).

### **6.2.5 Métodos estatísticos**

O programa Statgraphics Centurion XV foi utilizado para a análise estatística dos dados, sendo aplicados os testes não-paramétricos de Mann-Whitney e de Kruskal-Wallis, os quais não requerem uma distribuição específica de dados, para comparar o desempenho do reator durante as diferentes etapas experimentais. Os resultados dos testes foram avaliados de acordo com o valor de  $p$ . Se  $p \leq 0,050$ , a hipótese nula é rejeitada, ou seja, os grupos de dados são considerados estatisticamente diferentes.

## **6.3 Resultados e discussão**

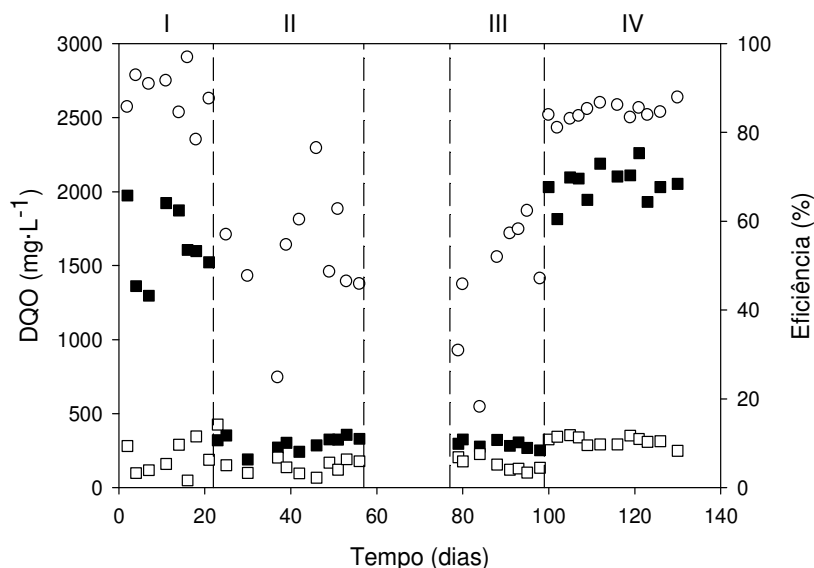
### **6.3.1 Remoção de DQO e produção de metano**

Inicialmente, na etapa I, embora o reator tenha apresentado certa instabilidade, altas eficiências de remoção de DQO (~90%) foram obtidas (Figura 6.2). Consequentemente, a produção média de metano, nessa etapa, foi de 0,461 L por g de DQO removida ( $L \cdot g \text{ DQO}_{\text{rem}}^{-1}$ ) (Tabela 6.2), uma produção 20% maior do que a teórica esperada a 1 atm e 27 °C ( $0,385 L \cdot g \text{ DQO}_{\text{rem}}^{-1}$ ), confirmando o bom desempenho operacional do reator.

Na etapa II, a concentração de etanol foi diminuída de forma a obter uma DQO média afluente de aproximadamente  $300 \text{ mg} \cdot L^{-1}$  (Tabela 6.2). Como esperado, devido à menor DQO afluente nessa etapa ( $p < 0,001$ ), menores valores de eficiência de remoção foram alcançados em relação à etapa I ( $p < 0,001$ ) (Figura 6.2). Contudo, a qualidade do efluente, em termos de DQO, permaneceu semelhante à da etapa anterior ( $p = 0,710$ ) (Tabela 6.2). Posteriormente, sob condições microaeróbias (adição de  $1,0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  de ar atmosférico a 1 atm e 27 °C) (etapa III), embora menores valores médios tenham sido observados (Tabela 6.2), as eficiências de remoção ( $p = 0,534$ ) e as concentrações efluentes de DQO ( $p = 0,804$ ) não apresentaram diferenças estatísticas em relação à etapa II (Figura 6.2). Portanto, a

aplicação da microaeração não teve um impacto significativo no desempenho de remoção de matéria orgânica do reator.

Figura 6.2 – DQO afluente e efluente e eficiência de remoção.



■, DQO afluente; □, DQO efluente; ○; eficiência de remoção.

Tabela 6.2 – Desempenho operacional do reator em termos de remoção de DQO e produção de metano.

Etapa		I	II	III	IV
Etanol ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )		0,76	0,11	0,12	0,96
Microaeração ( $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ )		-	-	1,0	1,0
pH	Efluente	7,6 (0,2)	7,9 (0,2)	7,8 (0,3)	7,7 (0,2)
	Afluente ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	1644 (255)	300 (50)	292 (26)	2054 (119)
	Efluente ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	191 (105)	167 (96)	156 (44)	315 (32)
	TR ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )	726 (111)	78 (24)	68 (22)	869 (62)
	Eficiência (%)	88,6 (5,8)	52,4 (13,5)	46,4 (15,0)	84,6 (1,8)
CH <sub>4</sub>	( $\text{L}\cdot\text{d}^{-1}$ )	0,86 (0,06)	-	-	0,74 (0,12)
	( $\text{L}\cdot\text{g DQO}_{\text{rem}}^{-1}$ )	0,461 (0,066)	-	-	0,282 (0,035)

DQO, demanda química de oxigênio; TR; taxa de remoção;  $\text{DQO}_{\text{rem}}$ , demanda química de oxigênio removida.

O desvio padrão é exibido entre parênteses.

Nas etapas II e III, constatou-se uma maior instabilidade nos valores de eficiência em relação à etapa I, o que pode ser justificado pelas baixas concentrações de matéria orgânica (Figura 6.2). Portanto, qualquer variação mínima nos valores afluentes e efluentes de DQO pode representar uma ampla flutuação da eficiência de remoção. Adicionalmente, não

foi possível registrar o volume de metano produzido a partir de uma DQO afluyente tão baixa devido à limitação do sistema de medição utilizado.

Finalmente, na etapa IV, ainda sob condições microaeróbias, quando altas concentrações de etanol foram aplicadas, as eficiências de remoção de DQO aumentaram consideravelmente ( $p < 0,001$ ), e o reator apresentou excelente estabilidade operacional (Figura 6.2). Entretanto, a DQO efluente foi aproximadamente 2 vezes maior do que a da etapa anterior ( $p < 0,001$ ) (Tabela 6.2).

Para verificar o impacto da microaeração quando o reator estava submetido a altas cargas de co-substrato, compararam-se os resultados obtidos nas etapas I e IV. Assim, na última etapa, verificou-se uma diminuição de 4% na eficiência média de remoção de DQO ( $p = 0,049$ ), enquanto a DQO média efluente aumentou significativamente de 191 para 315  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $p = 0,008$ ) (Tabela 6.2). Como a DQO média afluyente da etapa IV foi quase 25% maior do que a da etapa I ( $p = 0,001$ ) (Tabela 6.2), isso pode ter contribuído para o menor desempenho de remoção de DQO observado na última etapa experimental.

Com relação à produção média de metano, observou-se um decréscimo de 0,461 para apenas 0,282  $\text{L}\cdot\text{g DQO}_{\text{rem}}^{-1}$  ( $p = 0,008$ ) (Tabela 6.2), a qual é 27% menor do que a produção teórica esperada a esperada a 1 atm e 27 °C (0,385  $\text{L}\cdot\text{g DQO}_{\text{rem}}^{-1}$ ). Além disso, verificou-se um aumento da concentração de  $\text{CO}_2$  no biogás (dados não apresentados). Portanto, muito provavelmente, parte do substrato pode ter sido degradada aerobiamente.

Ressalta-se, por fim, que apesar de o potencial redox do reator não ter sido monitorado no presente estudo, acredita-se que adição de apenas 0,21  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  de oxigênio (a partir do ar atmosférico a 1 atm e 27 °C) não era suficiente para alterar esse parâmetro, já que Díaz *et al.* (2011), ao avaliar a remoção de  $\text{H}_2\text{S}$  sob condições microaeróbias em um digestor anaeróbio de lodo de esgoto, em escala piloto (200 L), não observaram mudanças no potencial redox do seu sistema quando uma vazão de oxigênio aproximadamente 8,5 maior do que a do presente estudo (1,8  $\text{mL O}_2\cdot\text{min}^{-1}$ ) foi aplicada.

### 6.3.2 Remoção de BTEX

Na etapa I, com exceção do benzeno, foram alcançadas eficiências médias de remoção acima de 80% para todos os compostos BTEX (Tabela 6.3), e o reator apresentou excelente estabilidade operacional (Figura 6.3). Conforme já era esperado, as menores eficiências (~50%) foram alcançadas para o benzeno, e as maiores, para o tolueno (~90%)



(Figura 6.3). As prováveis explicações para esse comportamento foram discutidas anteriormente (capítulo 4).

Tabela 6.3 – Desempenho operacional do reator em termos de remoção dos compostos BTEX.

<b>Etapa</b>		<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
<b>Etanol (<math>\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math>)</b>		0,76	0,11	0,12	0,96
<b>Microaeração (<math>\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}</math>)</b>		-	-	1,0	1,0
<b>BTEX</b>	Afluente ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	16158 (1280)	19537 (3109)	15845 (757)	16274 (1815)
	Efluente ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	3227 (212)	2677 (576)	971 (320)	1928 (313)
	TR ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )	6465 (580)	8430 (1615)	7437 (486)	7173 (804)
	Eficiência (%)	80,0 (1,3)	85,9 (4,5)	93,8 (2,2)	88,2 (1,3)
<b>B</b>	Afluente ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	2658 (226)	2995 (488)	2188 (333)	2519 (451)
	Efluente ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	1294 (102)	1122 (290)	159 (101)	472 (104)
	TR ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )	682 (75)	937 (257)	1015 (181)	1024 (191)
	Eficiência (%)	51,2 (2,3)	61,8 (10,9)	92,5 (4,9)	81,2 (3,0)
<b>T</b>	Afluente ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	2545 (177)	3332 (559)	2536 (222)	2550 (345)
	Efluente ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	240 (25)	103 (119)	53 (98)	263 (33)
	TR ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )	1152 (90)	1615 (311)	1241 (125)	1144 (166)
	Eficiência (%)	90,5 (1,2)	96,5 (4,3)	97,9 (4,0)	89,6 (1,5)
<b>E</b>	Afluente ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	2817 (221)	3462 (532)	2953 (81)	2844 (318)
	Efluente ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	395 (30)	290 (69)	48 (90)	233 (42)
	TR ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )	1211 (112)	1586 (280)	1452 (72)	1306 (151)
	Eficiência (%)	85,9 (1,6)	91,3 (3,1)	98,3 (3,1)	91,8 (1,5)
<b>o-X</b>	Afluente ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	2438 (193)	2989 (566)	2578 (67)	2626 (350)
	Efluente ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	484 (33)	437 (58)	244 (76)	341 (61)
	TR ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )	977 (86)	1276 (285)	1167 (64)	1143 (153)
	Eficiência (%)	80,1 (1,2)	84,8 (4,1)	90,5 (3,2)	87,0 (1,6)
<b>m,p-X</b>	Afluente ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	5700 (476)	6760 (1077)	5590 (298)	5734 (661)
	Efluente ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	814 (39)	726 (83)	467 (75)	620 (96)
	TR ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )	2443 (226)	3017 (554)	2562 (163)	2557 (301)
	Eficiência (%)	85,7 (0,9)	88,9 (2,8)	91,6 (1,5)	89,2 (1,4)

B, benzeno; T, tolueno; E, etilbenzeno; o-X, orto-xileno; m,p-X, meta- e para-xilenos; TR; taxa de remoção. O desvio padrão é exibido entre parênteses.

Estando de acordo com esses resultados, de Nardi *et al.* (2005), utilizando um RAHLF mesofílico (30 °C) com TDH de 11,4 h, para o tratamento de águas contaminadas com BTEX ( $\sim 3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cada composto) na presença de etanol, obtiveram eficiências médias de remoção entre 82 e 93% dependendo do composto. Por outro lado, Fernandes *et al.* (2006), durante o tratamento de água contaminada com gasolina, contendo os compostos aromáticos benzeno ( $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), tolueno ( $6,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e m-xileno ( $3,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), em um RAHLF

mesofílico (27 °C) operado com um TDH de 16 h, alcançaram eficiências de remoção de BTX de aproximadamente 95% durante o período de um mês.

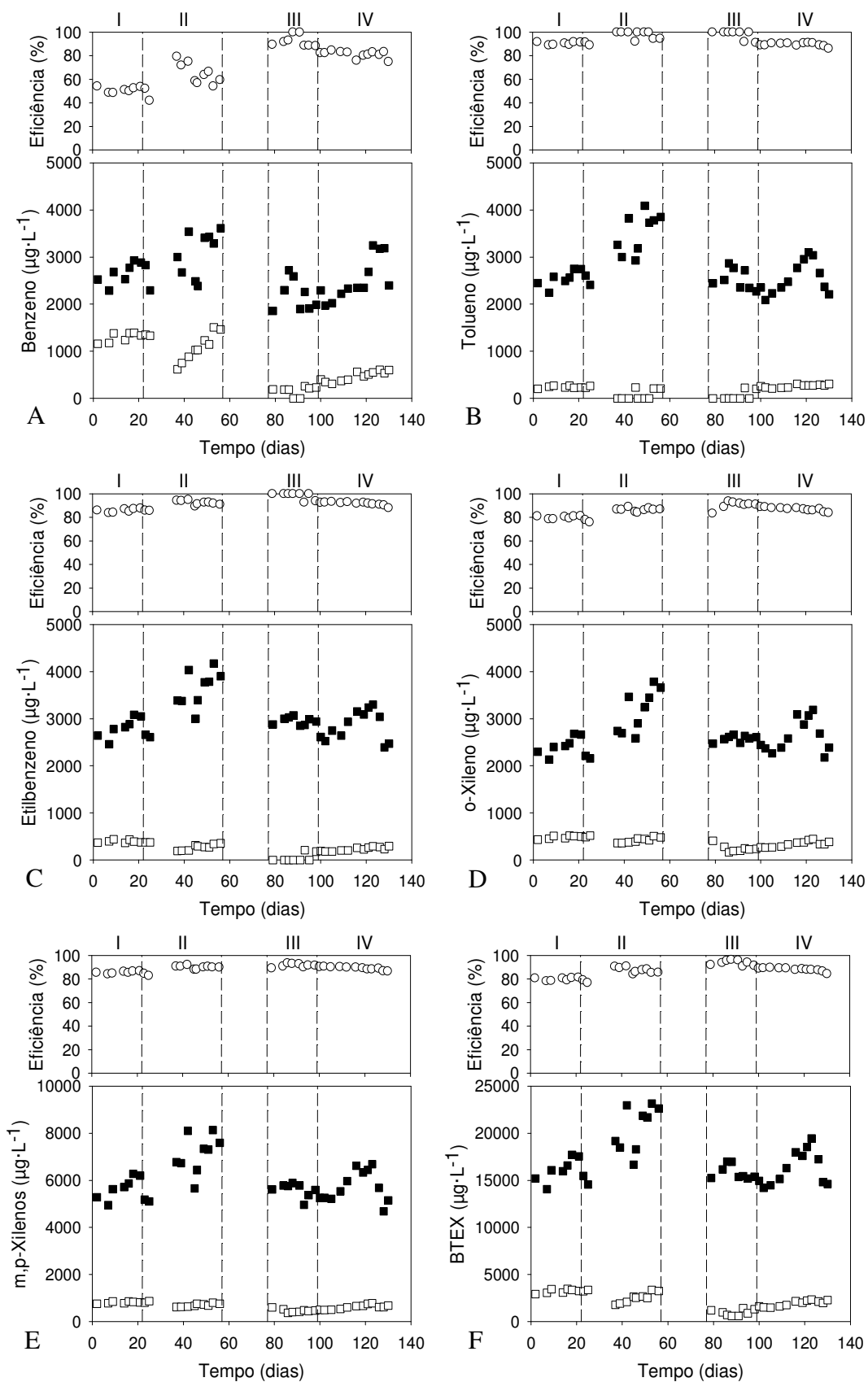
Posteriormente, na etapa II, a concentração de co-substrato foi reduzida (em aproximadamente 7 vezes) de forma a avaliar seu impacto na remoção anaeróbia de BTEX, já que o etanol é preferencialmente degradado em relação a esses compostos sob diversas condições redox (aeróbia, desnitrificante, sulfetogênica e metanogênica) conforme mencionado anteriormente (capítulos 4 e 5).

No início da etapa, observou-se uma elevação da eficiência de remoção de todos os compostos BTEX, notadamente para o benzeno (Figura 6.3). Entretanto, ao longo do tempo, as concentrações efluentes dos hidrocarbonetos aumentaram. Porém, apenas para o benzeno, verificou-se um decréscimo gradual das eficiências para valores próximos aos obtidos na etapa anterior (Figura 6.3). Provavelmente, esse comportamento poderia ser consequência de uma readaptação da comunidade microbiana às novas condições operacionais (escassez de fonte de carbono). Mesmo assim, as eficiências de remoção de todos os compostos BTEX dessa etapa experimental foram consideradas estatisticamente superiores às da etapa I ( $0,007 \leq p \leq 0,030$ ) (Tabela 6.3). Com relação à qualidade do efluente, apenas as dos compostos benzeno ( $p = 0,174$ ) e o-xileno ( $p = 0,103$ ) não melhoraram significativamente. Portanto, aparentemente, a escassez de etanol, favoreceu a degradação de BTEX conforme discutido nos capítulos 4 e 5.

Na etapa III, com a aplicação da microaeração ( $1,0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  de ar atmosférico a 1 atm e 27 °C), o reator apresentou boa estabilidade operacional, e, exceto para o tolueno ( $p = 0,535$ ), as eficiências de remoção de todos os compostos BTEX aumentaram significativamente ( $p \leq 0,016$ ) (Figura 6.3). Particularmente para o benzeno, observou-se um aumento de quase 31% na sua eficiência média de remoção, o que possibilitou a obtenção de uma concentração média efluente aproximadamente 7 vezes menor do que a da etapa II ( $159 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) (Tabela 6.3).

Sob condições aeróbias, o oxigênio é utilizado não apenas como aceptor terminal de elétrons, mas também na ativação enzimática inicial de compostos aromáticos, ou seja, o oxigênio é incorporado no anel aromático por meio de reações catalisadas por mono- ou dioxigenases (Figura 6.4). Assim, sob tais condições, a ativação bioquímica de hidrocarbonetos aromáticos consiste em introduzir um ou mais grupos hidroxila no anel aromático (monohidroxilação por meio de mono-oxigenases ou di-hidroxilação por meio de dioxigenases) de forma a promover a sua clivagem (FUCHS, 2008; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010).

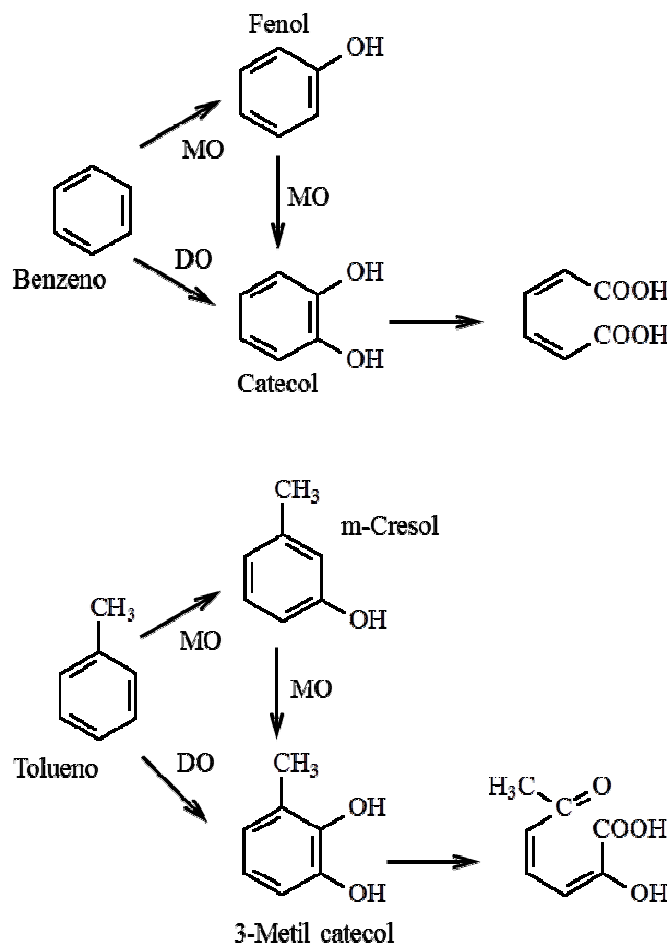
Figura 6.3 – Concentrações afluentes e efluentes e eficiências de remoção de benzeno (a), tolueno (b), etilbenzeno (c), o-xileno (d), m,p-xilenos (e) e BTEX (f).



■, Concentração afluente; □, concentração efluente; ○, eficiência de remoção.

Por outro lado, sob condições microaeróbias, alguns microrganismos utilizam oxigênio apenas para introduzir grupos hidroxila no anel aromático como nas rotas aeróbias clássicas, já que a sua clivagem acontece por meio de rotas metabólicas anaeróbias (FUCHS, 2008). Além disso, baixas concentrações de oxigênio suprimem a atividade enzimática de dioxigenases (HACK *et al.*, 1994; VILIESID; LILLY, 1992; YERUSHALMI *et al.*, 2001). Logo, a biotransformação, por exemplo, de benzeno a fenol e, posteriormente, a catecol (YERUSHALMI *et al.*, 2001; ZHOU *et al.*, 1999) e de tolueno a meta-cresol e, em seguida, a 3-metil catecol (OLSEN; KUKOR; KAPHAMMER, 1994) é catalisada por mono-oxigenases (Figura 6.4).

Figura 6.4 – Rota metabólica de biotransformação de benzeno e tolueno pela ação de mono- e dioxigenases.



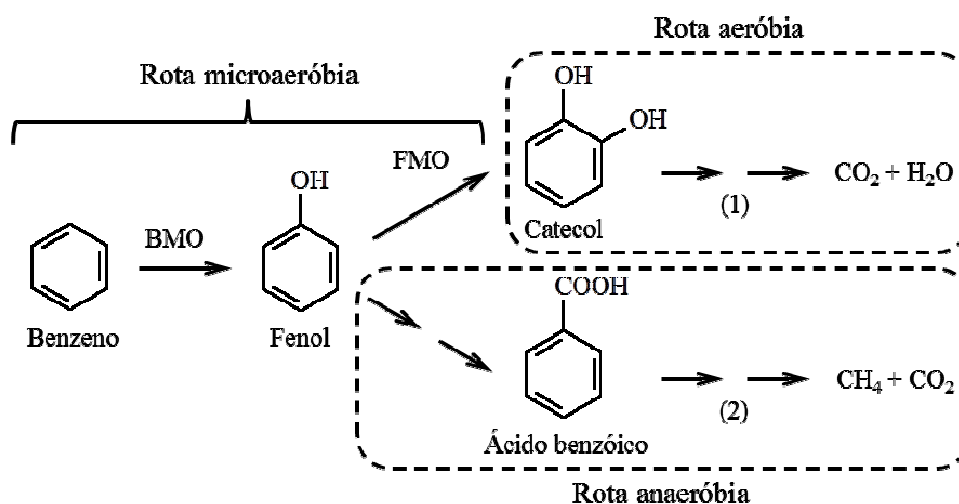
MO, mono-oxigenases; DO, dioxigenase.

Fonte: adaptado de Olsen, Kukor e Kaphammer (1994); Fuchs (2008) e Yerushalmi *et al.* (2001).

Entretanto, Yerushalmi *et al.* (2001), a partir de experimentos em batelada de degradação de benzeno com culturas aeróbias adaptadas a baixas concentrações de oxigênio,

observaram que, sob condições microaeróbias, a oxidação adicional de fenol – composto menos recalcitrante produzido a partir da hidroxilação inicial do benzeno por meio de mono-oxigenases – a catecol, por vias aeróbias, só acontece quando quantidades adequadas de oxigênio estão disponíveis. Alternativamente, esses autores propõem que, após o esgotamento completo de oxigênio, o fenol pode ser degradado anaerobiamente a benzoato pela ação de microrganismos anaeróbios apropriados (Figura 6.5). De fato, o fenol é considerado um dos possíveis intermediários chave da degradação anaeróbia inicial de benzeno (COATES; CHAKRABORTY; MCINERNEY, 2002).

Figura 6.5 – Rota metabólica de degradação de benzeno sob condições microaeróbias proposta por Yerushalmi *et al.* (2001).



BMO, benzeno mono-oxigenase; FMO, fenol mono-oxigenase. A mineralização completa de benzeno está condicionada à presença de quantidade adequada de oxigênio (1) ou de microrganismos apropriados (2).  
Fonte: adaptado de Yerushalmi *et al.* (2001).

Logo, no presente estudo, é provável que a adição de baixas concentrações de oxigênio tenha facilitado a ativação inicial dos compostos BTEX, a qual é, normalmente, considerada a etapa limitante do processo de degradação anaeróbia, principalmente para o benzeno (COATES; CHAKRABORTY; MCINERNEY, 2002; FOGHT, 2008; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010). Assim, provavelmente, alguns microrganismos, por meio de oxigenases, podem ter convertido os hidrocarbonetos aromáticos em intermediários fenólicos menos recalcitrantes sob condições anaeróbias, o que refletiu positivamente no desempenho de remoção do reator. Porém, ressalta-se que análises de microbiologia molecular seriam necessárias para corroborar as hipóteses propostas.

Finalmente, na etapa IV, ainda sob condições microaeróbias, altas concentrações de etanol foram aplicadas ao reator. Conseqüentemente, embora o seu desempenho tenha continuado bastante estável, mesmo para uma elevada variação das concentrações afluentes (Figura 6.3), menores eficiências médias de remoção de BTEX foram obtidas em relação à etapa III ( $p \leq 0,006$ ), principalmente para os compostos benzeno e tolueno (Tabela 6.3). Além disso, observou-se uma tendência de aumento das concentrações efluentes de BTEX ao longo do tempo, refletindo de forma negativa nos valores de eficiência de remoção (Figura 6.3). Portanto, esses resultados reforçam a hipótese de que a presença de altas concentrações de um substrato mais facilmente degradável, como o etanol, interfere negativamente na remoção dos hidrocarbonetos aromáticos, mesmo sob condições provavelmente mais favoráveis energeticamente como as microaeróbias, conforme discutido anteriormente (capítulos 4 e 5).

Com relação ao impacto da microaeração para altas cargas de co-substrato (etapas I e IV), mais uma vez, não se constatou alteração significativa na eficiência de remoção de tolueno ( $p = 0,175$ ), já que, conforme mencionado anteriormente, é considerado um hidrocarboneto relativamente menos recalcitrante sob diferentes condições redox. Por outro lado, as eficiências dos demais compostos aumentaram consideravelmente ( $p < 0,001$ ) sob condições microaeróbias (etapa IV) (Figura 6.3), notadamente para o benzeno, com um aumento de 30% na eficiência média (Tabela 6.3). Assim, apesar de não ter sido possível alcançar o mesmo desempenho de remoção de BTEX da etapa III, de modo geral, a adição de pequenas quantidades de oxigênio (a partir do ar atmosférico), muito provavelmente, facilitou a remoção dos compostos BTEX.

É importante comentar que a transferência de oxigênio a partir da injeção de pequenas bolhas de ar atmosférico para o líquido não é eficiente, pois, provavelmente, o tempo de permanência dessas bolhas no sistema utilizado não deve ser superior a 2 segundos. Logo, a dissolução de oxigênio no líquido, em reatores microaeróbios, acontece principalmente a partir do ar armazenado no *headspace* do reator (interface líquido-gás), sendo o tempo de residência do biogás nesse compartimento muito importante (LOPES, 2010). Para o reator utilizado no presente estudo, cujo volume do *headspace* era 0,4 L, o tempo de residência do biogás para altas cargas de etanol era de 4,8 h, enquanto, para baixas cargas, podia chegar a até 2 dias.

Conforme mencionado no capítulo 4, esporadicamente, foram feitas análises de BTEX no biogás. Durante todo o experimento, observou-se a presença desses hidrocarbonetos aromáticos no biogás, ou seja, provavelmente, uma fração desses compostos estava sendo removido por volatilização. Entretanto, a metodologia empregada não permitia a

quantificação de BTEX em amostras gasosas. Portanto, a partir de tais análises, não foi possível verificar o impacto do aumento da redução da carga de co-substrato ou da microaeração na remoção de BTEX por volatilização. Mesmo assim, acredita-se que a remoção de BTEX por *stripping* era negligenciável, já que o benzeno, composto menos volátil (FARHADIAN *et al.*, 2008), foi o que apresentou o maior aumento nos seus valores de eficiência de remoção com a introdução de baixas quantidades de oxigênio (Tabela 6.3), sugerindo, então, que, muito provavelmente, os hidrocarbonetos aromáticos foram removidos por um processo biológico em vez de um processo puramente físico.

Ainda, deve-se mencionar que o efeito da adaptação do lodo de inóculo aos compostos BTEX durante o experimento não foi considerado relevante quando comparado ao impacto da mudança das condições operacionais, já que não se observou uma tendência de aumento das eficiências de remoção de BTEX ao longo do tempo das etapas experimentais (Figura 6.3).

Por fim, mesmo para as elevadas eficiências alcançadas sob condições microaeróbias, ressalta-se a importância de um pós-tratamento para a remoção das concentrações residuais de alguns compostos BTEX, como, por exemplo, o benzeno, de forma a atender aos padrões de qualidade de água potável estabelecidos pelas legislações ambientais.

#### **6.4 Conclusões**

Dependendo do composto, eficiências de remoção de BTEX entre 50 e 97% foram obtidas sob condições anaeróbias, sendo os maiores valores alcançados para o tolueno (> 90%), e os menores, para o benzeno (50-62%), o qual é altamente estável termodinamicamente.

A adição de baixas concentrações de oxigênio (a partir do ar atmosférico) garantiu elevadas eficiências de remoção (> 80%) para todos os compostos sob condições microaeróbias.

Altas concentrações de etanol afetaram negativamente a remoção de BTEX, notadamente para o benzeno, sob condições anaeróbias e microaeróbias.





## 7 ROBUSTEZ DE REATOR MICROAERÓBIO DURANTE TRATAMENTO DE ÁGUAS SINTÉTICAS CONTAMINADAS COM BTEX

### 7.1 Introdução

Hidrocarbonetos monoaromáticos, tais como benzeno, tolueno, etilbenzeno e os isômeros do xileno (BTEX), são importantes constituintes do petróleo bruto e de seus derivados (WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010). De fato, esses compostos podem corresponder a até aproximadamente 18%, em massa, de uma mistura padrão de gasolina (JO *et al.*, 2008a). Portanto, a partir do vazamento acidental de tubulações e tanques de armazenamento subterrâneos de combustíveis fósseis, os BTEX – os quais possuem solubilidade e mobilidade em água relativamente alta – podem contaminar extensivamente solos e aquíferos subterrâneos, comprometendo fontes de água potável (DOU; LIU; HU, 2008; DOU *et al.*, 2008) e representando, assim, um sério problema ambiental e de saúde pública devido à elevada toxicidade e ao potencial carcinogênico desses compostos (FOGHT, 2008; JO *et al.*, 2008a; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010).

Além disso, no Brasil, etanol é adicionado à gasolina (20-25%, em volume) de forma a atenuar as emissões atmosféricas automotivas prejudiciais. Entretanto, isso pode agravar o problema de contaminação de aquíferos subterrâneos, já que o etanol pode exercer um efeito de co-solvência, aumentando a solubilidade em água dos BTEX e, conseqüentemente, resultando em concentrações mais elevadas (CORSEUIL *et al.*, 2011).

Entre as várias tecnologias de remediação, *in situ* ou *ex situ*, disponíveis para o tratamento de águas contaminadas com BTEX, os processos biológicos (ou biorremediação) têm se destacado por serem econômicos, eficientes e ambientalmente corretos (FARHADIAN *et al.*, 2008). De fato, microrganismos são capazes de degradar BTEX sob condições aeróbias, microaeróbias (ou hipóxicas) e anaeróbias (FUCHS, 2008; JO *et al.*, 2008a; SHIM *et al.*, 2005; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010; YERUSHALMI *et al.*, 2001; YERUSHALMI; LASCOURREGES; GUIOT, 2002).

A biorremediação *ex situ* por meio de reatores anaeróbios tem sido utilizada com sucesso no tratamento de águas contaminadas com poluentes químicos ou orgânicos, incluindo os BTEX. Entretanto, alguns parâmetros operacionais, tais como concentração afluente de poluentes, carga orgânica volumétrica, presença de aceptores alternativos de elétrons e outros, podem influenciar no desempenho de degradação desses compostos (FARHADIAN *et al.*, 2008).

Por exemplo, a adição de baixas concentrações de oxigênio pode favorecer a degradação inicial dos compostos BTEX, pois, sob condições microaeróbias, alguns microrganismos podem utilizar oxigênio para introduzir grupos hidroxila no anel aromático como nas rotas aeróbias clássicas, facilitando posteriormente sua clivagem por meio de rotas metabólicas anaeróbias (FUCHS, 2008). Entretanto, os experimentos, em batelada ou em fluxo contínuo, de degradação microaeróbia de BTEX encontrados na literatura tem utilizado apenas culturas aeróbias adaptadas a baixas concentrações de oxigênio (SHIM; YANG, 1999; SHIM; SHIN; YANG, 2002; SHIM; YANG, 2002; YERUSHALMI *et al.*, 2001; YERUSHALMI; LASCOURREGES; GUIOT, 2002). Assim, faz-se necessária a avaliação de processos microaeróbios na degradação de BTEX, principalmente com inóculos anaeróbios operados em condições microaeróbias.

Adicionalmente, variações de carga afluyente, pH, temperatura e compostos tóxicos e inibitórios podem afetar negativamente o desempenho de reatores (LEITÃO *et al.*, 2006). Segundo Kraakman (2003), um sistema biológico só pode ser implementado com sucesso se for considerado robusto para o seu propósito, ou seja, ser capaz de lidar com flutuações e de recuperar-se após falhas operacionais. Entretanto, Leitão *et al.* (2006) afirmam que a noção de estabilidade ou robustez de reatores anaeróbios ainda não é muito clara. Segundo esses autores, robustez pode ser definida como a capacidade dos sistemas de tratamento de alcançar um desempenho estável sob determinadas condições ambientais e operacionais. Sob essa perspectiva, os sistemas anaeróbios são tão estáveis quanto qualquer outro sistema biológico. Porém, estabilidade também pode ser definida em termos de variabilidade do efluente do processo, ou seja, a capacidade de um sistema de lidar com variações ambientais e operacionais mais severas (LEITÃO *et al.*, 2006). Assim, a verificação da robustez de um sistema de tratamento é um procedimento essencial, de grande importância para biorremediação *ex situ* de águas contaminadas com BTEX.

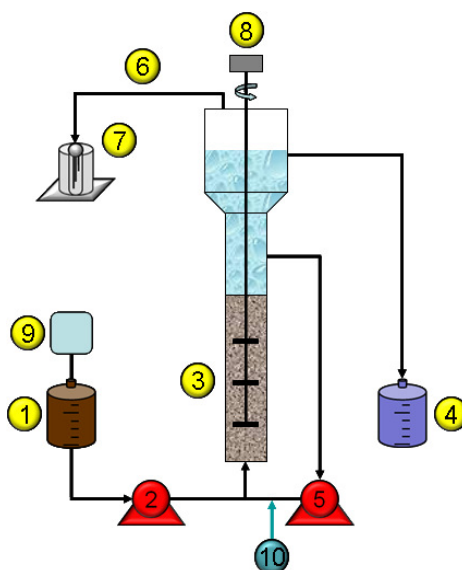
Face ao exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho de remoção de BTEX de reator microaeróbio quando submetido a simulações de choques de carga e de ausência desses hidrocarbonetos aromáticos, e de falhas operacionais, como desligamento do sistema e desligamento da microaeração, para verificação de sua robustez.

## 7.2 Material e métodos

### 7.2.1 Sistema experimental

Os experimentos em fluxo contínuo foram realizados, sob condições microaeróbias, no mesmo reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB, *up-flow anaerobic sludge blanket*), em escala laboratorial (volume útil de 3,3 L), feito a partir de tubos e conexões de PVC para esgoto (Figura 7.1), utilizado no experimento apresentado no capítulo 6, ou seja, um reator previamente adaptado aos compostos BTEX e à condição microaeróbia. Utilizou-se como inóculo lodo anaeróbio ( $\sim 50 \text{ g SSV} \cdot \text{L}^{-1}$ ) de um reator de circulação interna (IC, *internal circulation*) mesofílico de uma cervejaria (Horizonte, Ceará, Brasil), cuja atividade metanogênica específica (AME) foi  $0,63 \text{ g DQO (glicose)} \cdot \text{g SSV}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ .

Figura 7.1 – Configuração do sistema experimental utilizado na remoção de BTEX sob condições microaeróbias.



1, afluente; 2, bomba peristáltica (alimentação); 3, reator UASB; 4, efluente; 5, bomba dosadora (recirculação); 6, biogás; 7, medidor de gás; 8, homogeneizador; 9, bolsa de Tedlar® (N<sub>2</sub>); 10, sistema de introdução de ar (bomba peristáltica).

A fim de evitar a formação de caminhos preferenciais ou curtos-circuitos através da manta de lodo e facilitar a liberação do biogás, evitando o efeito pistão (elevação da manta de lodo causada pelo biogás aprisionado), um homogeneizador (5 rpm) foi instalado no reator (LEITÃO, 2004).

O afluente era armazenado a aproximadamente 5 °C em um recipiente de PVC (volume total de 7 L) provido de uma atmosfera de N<sub>2</sub> (100%, White Martins, Brasil), a partir de uma bolsa de Tedlar® para amostragem de gás (Supelco, EUA), a fim de evitar a volatilização de BTEX dentro do recipiente e minimizar o contato do afluente com o O<sub>2</sub> do ar.

O reator era alimentado por meio de bomba peristáltica (Minipuls 3, Gilson, EUA) através de tubos flexíveis de Tygon® *Fuel and Lubricant* (Cole-Parmer, EUA) – material inerte aos compostos aromáticos testados – e operado com um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 48 h à temperatura ambiente de aproximadamente 27 °C.

O efluente era recirculado (0,7 L·h<sup>-1</sup>) por meio de bomba dosadora (Concept Plus, ProMinent Dosiertechnik GmbH, Alemanha), e a microaeração (1,0 mL·min<sup>-1</sup> de ar atmosférico a 1 atm e 27 °C) era aplicada por meio de bomba peristáltica (Minipuls 3, Gilson, EUA). O biogás produzido era coletado e medido por um medidor de gás previamente calibrado (método de deslocamento de líquido).

### **7.2.2 Água contaminada sintética**

A água contaminada sintética consistia de uma solução aquosa contendo BTEX, ou seja, benzeno (99,5%, Dinâmica Química, Brasil), tolueno (99,5%, Vetec, Brasil), etilbenzeno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA), o-xileno (98,0%, Fluka, EUA), m-xileno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA) e p-xileno (99,0%, Sigma-Aldrich, EUA), um co-substrato, meio basal (macro e micronutrientes) e um tampão. O co-substrato (~2 g DQO·L<sup>-1</sup>) era o etanol (99,8%, Dinâmica, Brasil), e o meio basal era preparado de acordo com Firmino *et al.* (2010). Para manter o pH próximo a 7,0, a solução era tamponada com bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) na proporção de 1 g de NaHCO<sub>3</sub> para cada 1 g DQO. Todos os reagentes foram utilizados como adquiridos, sem purificação adicional.

### **7.2.3 Procedimento experimental**

A presente investigação foi conduzida em quatro experimentos para avaliar o desempenho de remoção de BTEX do reator microaeróbio quando submetido a simulações de choques de carga e de ausência desses hidrocarbonetos aromáticos, e de falhas operacionais, como desligamento do sistema e desligamento da microaeração.

### 7.2.3.1 Choque de carga de BTEX

No primeiro experimento, avaliou-se o desempenho de remoção de BTEX do reator microaeróbio quando submetido a choques de carga desses hidrocarbonetos aromáticos de 2 a 3,5 vezes a sua concentração usual no período estacionário (dependendo do composto) (Tabela 7.1). Primeiramente, o reator foi submetido a um período de choque (C1) de 4 dias (2 TDH). Após a obtenção de concentrações efluentes similares ou inferiores às alcançadas no período anterior a C1, o reator foi submetido a um segundo choque (C2) com duração de 7 dias (3,5 TDH), já que o impacto do aumento da concentração de BTEX no desempenho de remoção de alguns compostos não foi muito evidente. Finalmente, para verificar a reprodutibilidade da resposta do sistema, após a obtenção de concentrações efluentes similares ou inferiores às alcançadas no período anterior a C2, o reator foi submetido a um terceiro choque (C3) com a mesma intensidade e duração de C2.

Tabela 7.1 – Concentrações médias afluentes de BTEX durante período estacionário (PE) e períodos de choque (C1, C2 e C3), e intensidade de choque (I).

Composto	PE		C1		C2		C3	
	Conc.	Conc.	I	Conc.	I	Conc.	I	
Benzeno	3,3 ± 0,3	10,1 ± 0,6	3,0	11,2 ± 0,7	3,4	11,3 ± 0,3	3,4	
Tolueno	5,0 ± 1,0	13,4 ± 0,4	2,7	13,0 ± 0,7	2,6	13,1 ± 0,4	2,6	
Etilbenzeno	4,9 ± 0,8	9,9 ± 1,3	2,0	11,5 ± 1,5	2,4	12,8 ± 0,7	2,6	
o-Xileno	4,2 ± 0,8	8,7 ± 1,2	2,1	9,2 ± 1,3	2,2	10,1 ± 0,5	2,4	
m,p-Xilenos	8,3 ± 1,5	17,2 ± 2,3	2,1	19,4 ± 2,9	2,3	21,7 ± 1,3	2,6	
BTEX	25,7 ± 4,1	59,3 ± 4,6	2,3	64,4 ± 5,9	2,5	68,8 ± 2,9	2,7	

PE, período estacionário; C1, choque 1 (2 TDH); C2, choque 2 (3,5 TDH); C3, choque 3 (3,5 TDH); conc., concentração em mg·L<sup>-1</sup>; I, intensidade do choque (conc. choque/conc. PE).

### 7.2.3.2 Ausência de BTEX

No segundo experimento, avaliou-se o desempenho de remoção de BTEX do reator microaeróbio, o qual era alimentado com água contaminada sintética contendo 3,2 ± 0,5 mg·L<sup>-1</sup> benzeno, 4,3 ± 0,4 mg·L<sup>-1</sup> tolueno, 4,5 ± 0,7 mg·L<sup>-1</sup> etilbenzeno, 3,8 ± 0,5 mg·L<sup>-1</sup> o-xileno e 7,6 ± 1,1 mg·L<sup>-1</sup> m,p-xilenos (23,5 ± 2,9 mg·L<sup>-1</sup> BTEX), após um período (A) de 7 dias (3,5 TDH) durante o qual o etanol (~2 g DQO·L<sup>-1</sup>) era a única fonte de carbono e energia.

#### 7.2.3.4 Desligamento do sistema de tratamento

No terceiro experimento, avaliou-se o desempenho de remoção de BTEX do reator microaeróbio, o qual era alimentado com água contaminada sintética contendo  $3,4 \pm 0,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  benzeno,  $4,4 \pm 0,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  tolueno,  $4,7 \pm 0,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  etilbenzeno,  $3,8 \pm 0,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  o-xileno e  $7,9 \pm 0,9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  m,p-xilenos ( $24,4 \pm 1,9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  BTEX), após um período (DS) de 17 dias (8,5 TDH) durante o qual o sistema de tratamento foi desligado.

#### 7.2.3.4 Desligamento da microaeração

No quarto experimento, verificou-se o impacto do desligamento da microaeração no desempenho de remoção de BTEX do reator microaeróbio, o qual era alimentado com água contaminada sintética contendo  $3,9 \pm 0,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  benzeno,  $3,5 \pm 0,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  tolueno,  $3,1 \pm 0,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  etilbenzeno,  $3,3 \pm 0,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  o-xileno e  $7,1 \pm 0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  m,p-xilenos ( $20,9 \pm 1,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  BTEX). Para isso, a microaeração foi desligada por um período (DM1) equivalente a 3,5 TDH (7 dias). De forma a verificar a reprodutibilidade da resposta do sistema, após a obtenção de concentrações efluentes similares às alcançadas no período anterior a DM1, a microaeração foi desligada novamente por um período (DM2) também de 7 dias (3,5 TDH).

#### 7.2.4 Análises químicas e cromatográficas

DQO e pH eram determinados de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

Os compostos BTEX eram determinados por extração por *headspace* estático (Triplus HS, Thermo Scientific, USA) seguido de cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (HS-GC-FID, *headspace-gas chromatography-flame ionization detection*) (Trace GC Ultra, Thermo Scientific, USA) conforme descrito no capítulo 3 (seção 3.2.2.2). Todas as amostras (15 mL) eram previamente diluídas com água ultrapura (Milli-Q system, EMD Millipore, USA) diretamente em *vials* de vidro borossilicato para *headspace* (20 mL) (Supelco, EUA), os quais eram, em seguida, selados com septos de PTFE/silicone e lacres de alumínio (Supelco, EUA).

A caracterização de biogás foi realizada, em termos de ar ( $\text{O}_2 + \text{N}_2$ ),  $\text{CO}_2$ , e  $\text{CH}_4$ , por cromatografia gasosa com detecção por condutividade térmica (GC-TCD, *gas*

*chromatography-thermal conductivity detection*) (GC-17A, Shimadzu Corporation, Japão) conforme descrito no capítulo 4 (seção 4.2.4).

### 7.3 Resultados e discussão

#### 7.3.1 Choque de carga de BTEX

Antes do primeiro choque de carga de BTEX (C1), as concentrações médias efluentes dos compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno, o-xileno e m,p-xilenos eram aproximadamente 810, 235, 380, 565 e 870  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente. Durante C1 (duração de 4 dias), com exceção do benzeno, a resposta do sistema não foi muito evidente. Para esse composto, observou-se um aumento da concentração efluente para quase 1400  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , e o reator levou 3 dias para alcançar valores similares aos obtidos no período pré-choque (Figura 7.2). Por outro lado, para os demais compostos, as concentrações efluentes praticamente permaneceram inalteradas durante C1. Entretanto, a partir do dia 15 de operação (6 dias após o término de C1), menores concentrações efluentes foram obtidas, especialmente para o etilbenzeno (Figura 7.2).

Segundo Cai, Zheng e Mahmood (2010), a estabilidade de um biorreator pode ser caracterizada em dois aspectos: resistibilidade, definida como a capacidade de resistir a qualquer perturbação no sistema, e resiliência, definida como a capacidade de recuperar-se da perturbação. Por serem conceitos abstratos, os autores supracitados afirmam que não podem ser considerados como índices de julgamento. Logo, para avaliar de forma concreta a robustez do sistema durante choques de carga, recomendam o uso de parâmetros específicos apresentados por Cai, Zheng e Mahmood (2009): índice de sensibilidade (IS), resposta causada por unidade de intensidade de choque (R) e tempo de recuperação (TR). Os parâmetros IS e R são calculados de acordo com as Equações 7.1 e 7.2 (CAI; ZHENG; MAHMOOD, 2009), em que  $O_{\text{máx}}$  é a concentração máxima de substrato observada no efluente,  $O_n$  é a concentração normalmente observada no efluente antes do choque, e I é a intensidade do choque. TR é definido como tempo necessário para que o sistema alcance valores similares aos obtidos no período pré-choque após término do choque de carga.

$$IS = \frac{O_{\text{máx}} - O_n}{O_n} \quad (7.1)$$

$$R = \frac{O_{\text{máx}} - O_n}{I} \quad (7.2)$$

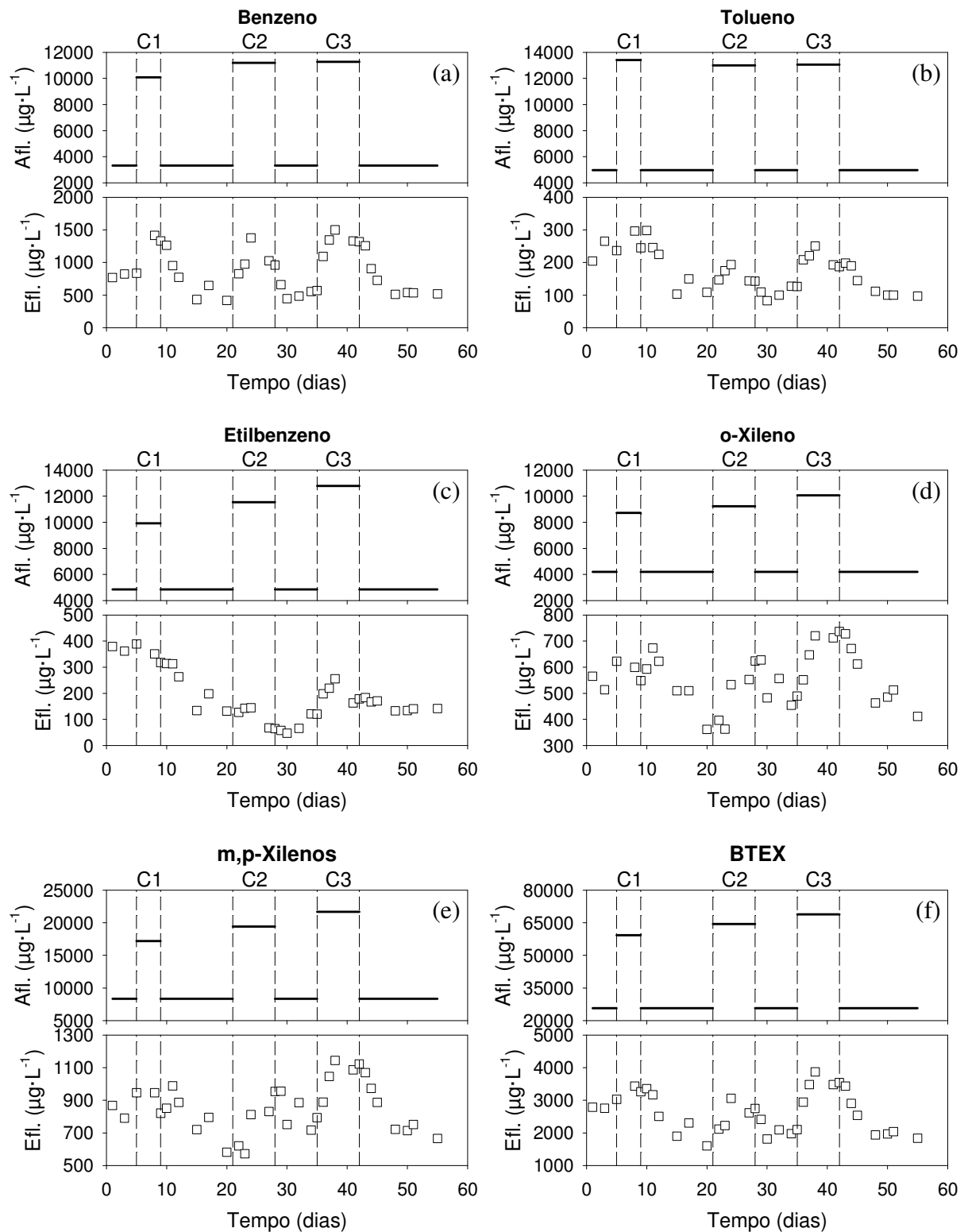
Na Tabela 7.2, são apresentados, então, os parâmetros IS, R e TR calculados para C1, a partir dos quais se pode confirmar o que foi mencionado para o primeiro choque de carga. Enquanto o IS do benzeno foi 0,75 – o que representa um aumento máximo de 75% no valor da concentração efluente em relação à obtida no período anterior a C1 –, os IS dos demais compostos foram menores do que 0,30. Os tempos de recuperação variaram de 3 a 6 dias.

Como o impacto do aumento da concentração afluente de BTEX no desempenho de remoção de alguns compostos não foi muito evidente para um período de 4 dias (C1), o reator foi submetido a um segundo choque (C2) com duração de 7 dias (3,5 TDH). Com exceção do etilbenzeno, o aumento do tempo de exposição parece ter tornado o impacto do aumento da carga de BTEX mais evidente para todos os compostos, notadamente para benzeno e tolueno (Figura 7.2). Embora as concentrações efluentes máximas alcançadas para todos os hidrocarbonetos não tenham superado as do primeiro choque (C1) (Figura 7.2), os IS calculados para C2 foram maiores (~2 vezes) do que os obtidos para C1 (Tabela 7.2), já que as concentrações registradas antes de C2 eram inferiores às anteriores a C1. Contudo, o sistema apresentou uma recuperação bem mais rápida do que observado no primeiro choque ( $TR \leq 2$  dias) (Tabela 7.2).

Para verificar a reprodutibilidade da resposta do sistema, o reator foi submetido a um terceiro choque (C3) com a mesma intensidade e duração de C2. As concentrações efluentes máximas foram superiores às obtidas em C2 (Figura 7.2). Conseqüentemente, os parâmetros IS e R calculados para C3 foram maiores dos que os registrados para o choque anterior (Tabela 7.2), especialmente para o tolueno, cujo valor dos parâmetros foi praticamente o dobro, e para o etilbenzeno, que apesar de ter mostrado um comportamento completamente diferente dos demais compostos nos dois primeiros choques (Figura 7.2), apresentou o segundo maior IS em C3 (Tabela 7.2). Contudo, diferentemente do observado em C2, foram necessários 6 dias (TR) para que o reator obtivesse um efluente com qualidade similar à do período anterior ao início de C3 (Tabela 7.2).



Figura 7.2 – Desempenho de remoção de benzeno (a), tolueno (b), etilbenzeno (c), o-xileno (d), m,p-xilenos (e) e BTEX (f) durante choques de carga de BTEX (C1, C2 e C3).



—, Concentração afluyente (valor médio); □, concentração efluente; C1, choque 1 (2 TDH); C2, choque 2 (3,5 TDH); C3, choque 3 (3,5 TDH).

Tabela 7.2 – Efeito dos períodos de choque de carga de BTEX (C1, C2 e C3) e tempo de recuperação (TR).

Choque	Composto	I	IS	R ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	TR (dias)
C1	Benzeno	3,0	0,75	200	3
	Tolueno	2,7	0,27	23	3
	Etilbenzeno	2,0	-	-	-
	o-Xileno	2,1	0,19	51	6
	m,p-Xilenos	2,1	0,14	58	6
	BTEX	2,3	0,20	250	3
	-----				
C2	Benzeno	3,4	1,75	260	2
	Tolueno	2,6	0,60	28	1
	Etilbenzeno	2,4	-	-	-
	o-Xileno	2,2	0,36	76	2
	m,p-Xilenos	2,3	0,37	110	2
	BTEX	2,5	0,58	449	2
-----					
C3	Benzeno	3,4	1,80	285	6
	Tolueno	2,6	1,13	51	6
	Etilbenzeno	2,6	1,50	58	6
	o-Xileno	2,4	0,47	99	6
	m,p-Xilenos	2,6	0,43	133	6
	BTEX	2,7	0,88	678	6

C1, choque 1 (2 TDH); C2, choque 2 (3,5 TDH); C3, choque 3 (3,5 TDH); I, intensidade do choque (conc. choque/conc. período estacionário); IS, índice de sensibilidade; R, resposta causada por unidade de intensidade de choque; TR, tempo de recuperação após fim do período de choque.

Ramakrishnan e Gupta (2008a), durante o tratamento de efluente contendo compostos fenólicos ( $752 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) em um reator anaeróbico híbrido (TDH = 24 h) mesofílico ( $27 \text{ }^\circ\text{C}$ ), observaram que, com o aumento da concentração afluente desses compostos aromáticos para  $1880 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  durante 4 dias, ou seja, um choque de carga com intensidade 2,5 maior do que a carga usual, a concentração efluente de fenóis aumentou de 7 para  $94 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Os autores, no entanto, afirmam que o lodo granular aclimatado utilizado no reator foi capaz de recuperar o desempenho normal de remoção em 4 dias.

Um aspecto importante a ser considerado no desempenho de remoção de sistemas de tratamento submetidos a choques de carga de substrato é verificar se o aumento da concentração efluente corresponde à quantidade adicional de substrato aplicada durante o período de choque, ou seja, se a capacidade do reator já está em seu limite, e o excesso de substrato não é removido. No presente estudo, o aumento da quantidade de BTEX no efluente

foi bem menor do que a quantidade adicional aplicada durante todos os períodos de choque. Além disso, de modo geral, as concentrações efluentes começavam a diminuir no próprio período de choque, normalmente após a metade desse período (Figura 7.2). Portanto, supõe-se que o reator estava subcarregado e mostrou potencial para remover uma carga de BTEX maior do que a usualmente aplicada.

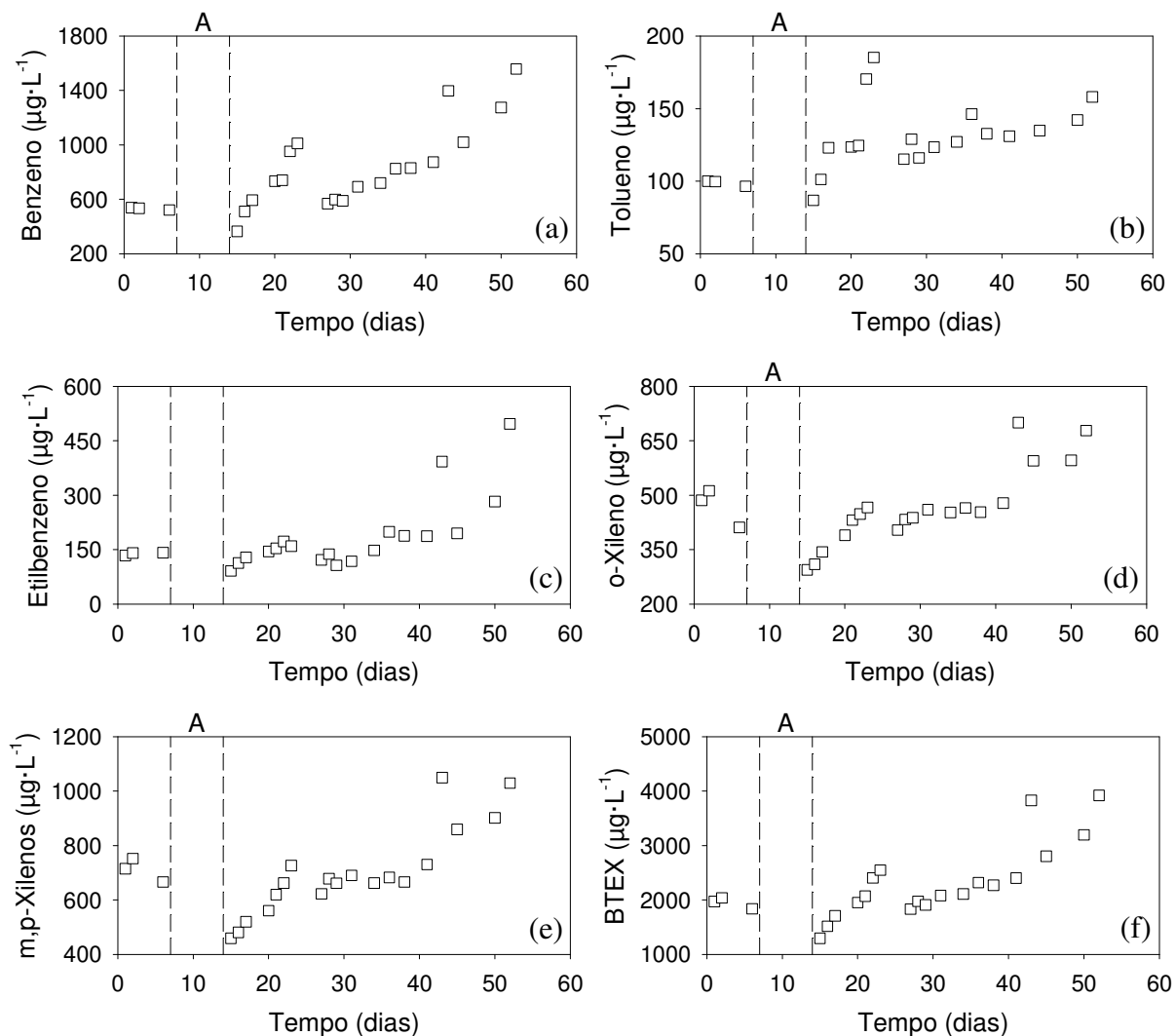
Dentre os diferentes compostos testados, o benzeno foi o que apresentou a maior variação das concentrações efluentes durante os choques (Figura 7.2), apresentando os maiores índices de sensibilidade (IS) (Tabela 7.2). Entretanto, sua intensidade de choque era quase sempre 1 unidade maior do que a dos outros compostos. Logo, isso pode influenciar no julgamento de qual desses hidrocarbonetos é o mais recalcitrante em situações de carga transiente. Porém, pelo parâmetro R, é possível verificar qual o aumento da concentração efluente por unidade de choque. Assim, confirma-se que o benzeno foi o composto mais recalcitrante, apresentando R superior a  $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  em todos os períodos de choque testados, enquanto o tolueno foi considerado menos problemático ( $R \leq 51$ ) (Tabela 7.2).

Por fim, não foram verificadas mudança no desempenho de remoção de DQO (~93%) do reator durante todo este experimento, já que as maiores concentrações de BTEX correspondiam no máximo 10% da DQO afluente total. Portanto, de modo geral, o reator sob condições microaeróbias conseguiu lidar com os choques de carga de BTEX embora choques consecutivos tenham aumentado seu tempo de recuperação.

### **7.3.2 Ausência de BTEX**

Antes do período de ausência de BTEX (A), as concentrações médias efluentes dos compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno, o-xileno e m,p-xilenos eram aproximadamente  $530$ ,  $100$ ,  $140$ ,  $470$  e  $710 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente. Durante o período de 7 dias de ausência desses compostos no afluente, ou seja, quando o etanol era a única fonte de carbono e energia, constatou-se, visualmente, a presença de sólidos no efluente durante alguns dias, conferindo uma cor escura a este. Conseqüentemente, após a restauração da alimentação do reator com os compostos BTEX, observou-se um aumento gradual das concentrações efluentes de todos os compostos até o dia 23 de operação (9 dias após o término do período A), notadamente para o benzeno e o tolueno, cujos valores de concentração chegaram a atingir o dobro do observado antes do período A (Figura 7.4).

Figura 7.4 – Desempenho de remoção de benzeno (a), tolueno (b), etilbenzeno (c), o-xileno (d), m,p-xilenos (e) e BTEX (f) após período de ausência de BTEX (A).



□, Concentração efluente; A, período de ausência de BTEX (3,5 TDH).

Em seguida, no dia 27 de operação, as concentrações dos compostos diminuíram para valores próximos àqueles obtidos antes do período A e apresentaram uma tendência de estabilização (Figura 7.4). Porém, a partir do dia 31 de operação, observou-se novamente a perda de sólidos pelo efluente, e as concentrações efluentes começaram a aumentar gradativamente até o fim do experimento (dia 52 de operação), atingindo valores 2 a 3 vezes maiores do que os obtidos antes do período A (Figura 7.4).

Muito provavelmente, a ausência dos compostos BTEX, parece ter perturbado o equilíbrio da microbiota do reator, afetando diretamente as populações com afinidade específica aos compostos aromáticos avaliados, as quais estariam diretamente relacionadas à sua degradação inicial, enquanto os microrganismos responsáveis pela degradação de etanol

parecem não ter sido afetados, já que a remoção de DQO (~92%) não mudou ao longo do experimento.

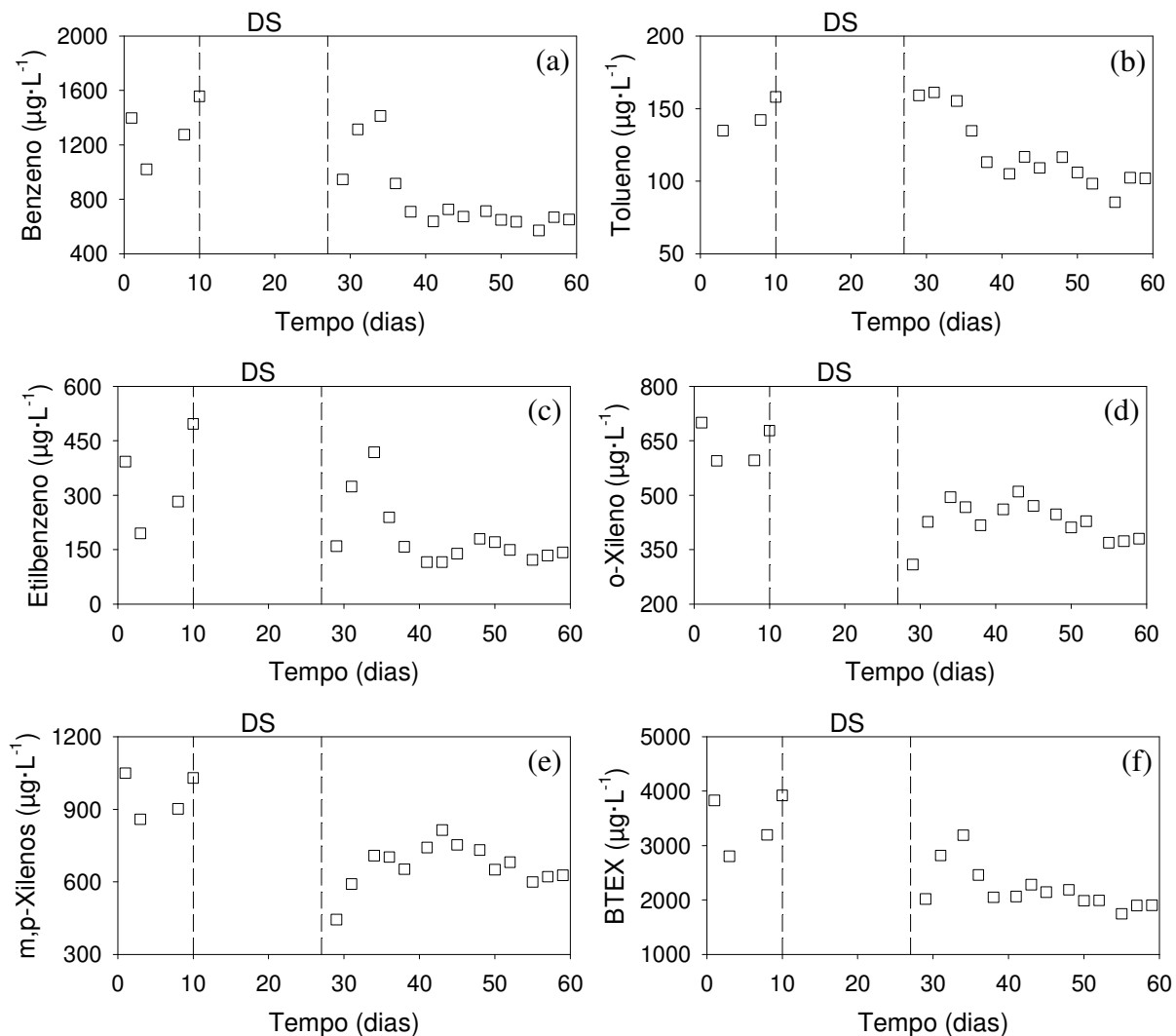
### 7.3.3 Desligamento do sistema de tratamento

Antes do período de 17 dias de desligamento do sistema de tratamento (DS), as concentrações médias efluentes dos compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno, o-xileno e m,p-xilenos eram aproximadamente 1300, 150, 340, 640 e 960  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente. Após o período DS, com o religamento do sistema, observou-se um aumento inicial das concentrações efluentes de todos os compostos até o dia 34 de operação (7 dias após o término do período DS) (Figura 7.5). Porém, especificamente para os compostos benzeno e tolueno, a partir do dia 36 de operação, as concentrações efluentes diminuíram consideravelmente até o dia 41, a partir do qual houve uma tendência à estabilização até o fim do experimento, atingindo valores próximos a 630 e 100  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente (Figura 7.5).

Comportamento similar foi observado para o etilbenzeno apesar de uma maior flutuação dos valores de concentração efluente entre os dias 45 e 52 (Figura 7.5). Mesmo assim, ao fim do experimento, a concentração efluente de etilbenzeno estabilizou em aproximadamente 130  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Por outro lado, para os isômeros do xileno, suas concentrações efluentes iniciaram a diminuir apenas após o dia 43 de operação, alcançando valores estáveis apenas a partir do dia 55 (~375  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  o-xileno; ~615  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  m,p-xilenos) (Figura 7.5).

Embora os xilenos tenham sido mais problemáticos, de modo geral, foram necessários 14 dias de operação (7 TDH), após religamento do sistema, para que o reator atingisse um desempenho de remoção de BTEX estável, em que foram obtidas concentrações efluentes menores do que às registradas antes do período DS (Figura 7.5). Assim, é provável que tenha ocorrido uma readaptação da microbiota em contato com os BTEX presentes no reator durante o período DS, por meio de mecanismos, como transferência horizontal de genes, mutações ou rearranjos de DNA (SPRINGAEL; TOP, 2004), o que possibilitou, após um tempo de crescimento e de indução das enzimas (14 dias), a obtenção de uma melhor qualidade efluente. De fato, a literatura aponta a transferência horizontal de genes como o principal mecanismo da adaptação de microrganismos a compostos aromáticos e da evolução de suas vias catabólicas para tais compostos em ecossistemas anaeróbios (CARMONA *et al.*, 2009). Finalmente, não houve mudança no desempenho de remoção de DQO (~94%) durante todo o ensaio.

Figura 7.5 – Desempenho de remoção de benzeno (a), tolueno (b), etilbenzeno (c), o-xileno (d), m,p-xilenos (e) e BTEX (f) após período de desligamento do sistema de tratamento (DS).



□, Concentração efluente; DS, período de desligamento do sistema de tratamento (17 dias = 8,5 TDH).

### 7.3.4 Desligamento da microaeração

Antes do primeiro período de 7 dias de desligamento da microaeração (DM1), as concentrações médias efluentes dos compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno, o-xileno e m,p-xilenos eram aproximadamente 640, 130, 140, 350 e 745  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente. Apesar de o índice de sensibilidade (IS) e o tempo de recuperação (TR) serem parâmetros recomendados para avaliar o efeito de choques de carga no desempenho de sistemas de tratamento, optou-se por utilizá-los, neste experimento, para melhor visualizar o impacto do desligamento da microaeração na qualidade do efluente para os diferentes compostos testados (Tabela 7.3).

Tabela 7.3 – Efeito dos períodos de desligamento da microaeração (DM1 e DM2) e tempo de recuperação (TR).

Composto	DM1		DM2 <sup>a</sup>	
	IS	TR (dias)	IS	TR (dias)
Benzeno	1,93	3	1,55	> 2
Tolueno	0,30	3	0,14	1
Etilbenzeno	2,06	3	1,71	2
o-Xileno	0,35	2	0,10	2
m,p-Xilenos	0,45	3	0,18	> 2
BTEX	0,97	3	0,70	2

DM1 e DM2, períodos de desligamento da microaeração; IS, índice de sensibilidade; TR, tempo de recuperação após fim do período de desligamento da microaeração.

<sup>a</sup>Não foi possível registrar período estacionário após DM2 devido ao rompimento prematuro do tubo peristáltico de microaeração. TR estimado.

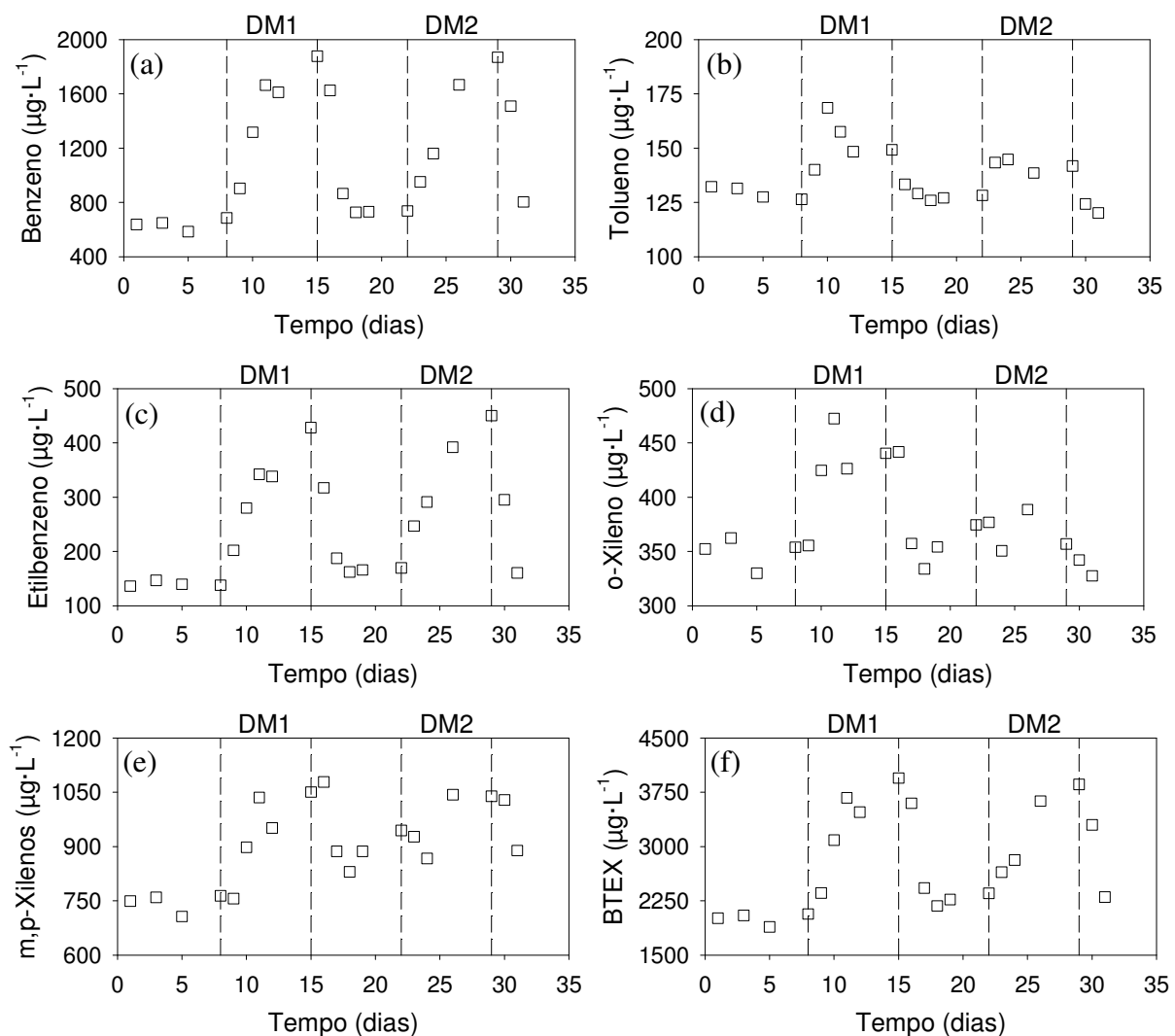
Durante DM1, as concentrações efluentes de todos os hidrocarbonetos aromáticos aumentaram, notadamente para os compostos benzeno e etilbenzeno, cujos IS foram aproximadamente 2 (Tabela 7.3), ou seja, suas concentrações efluentes atingiram um valor máximo 3 vezes maior do que às registradas no período anterior a DM1 (Figura 7.6). Após a restauração das condições microaeróbias, o reator levou 3 dias para recuperar o desempenho de remoção de BTEX similar àquele anterior a DM1 (Tabela 7.3).

De forma a verificar a reprodutibilidade da resposta do sistema, a microaeração foi desligada novamente por um período (DM2) também de 7 dias (3,5 TDH). Enquanto as respostas para os compostos benzeno e etilbenzeno foram semelhantes às observadas no período DM1, o impacto da ausência de microaeração para os demais compostos foi bem menos evidente (Figura 7.6), com IS menores do 0,2 (Tabela 7.3). Devido ao rompimento prematuro do tubo peristáltico de microaeração, não foi possível registrar período estacionário após DM2. Entretanto, estima-se que o TR seria de 2 a 3 dias, conforme observado no período anterior (Tabela 7.3).

Díaz e Fdz-Polanco (2012), ao avaliar a remoção de H<sub>2</sub>S sob condições microaeróbias em um digestor anaeróbio de lodo de esgoto, em escala piloto (200 L), observaram que a interrupção do fornecimento de oxigênio levou a um aumento da concentração de H<sub>2</sub>S de 70 a 22500 mg·m<sup>-3</sup> em apenas 7 h. Segundo os autores, assim que o fluxo de oxigênio foi restaurado após 9 dias de operação, a concentração do poluente caiu gradualmente até atingir os valores estacionários anteriores em 28 h. Logo, concluíram que a

interrupção do fornecimento de oxigênio não resultou numa deterioração da capacidade de remoção já que os mesmos valores estacionários foram encontrados.

Figura 7.6 – Desempenho remoção de benzeno (a), tolueno (b), etilbenzeno (c), o-xileno (d), m,p-xilenos (e) e BTEX (f) durante desligamento da microaeração (DM1 e DM2).



□, Concentração efluente; DM1 e DM2, períodos de desligamento da microaeração (3,5 TDH).

De modo geral, no presente experimento, verificou-se a importância da adição de baixas concentrações de oxigênio para a remoção dos BTEX, já que, conforme discutido no capítulo 6, pode ter facilitado sua ativação inicial, a qual é, normalmente, considerada a etapa limitante do processo de degradação anaeróbia, principalmente para o benzeno (COATES; CHAKRABORTY; MCINERNEY, 2002; FOGHT, 2008; WEELINK; VAN EEKERT; STAMS, 2010). Ainda, não houve mudança no desempenho de remoção de DQO (~95,5%) durante todo o período experimental.



Finalmente, ressalta-se a importância da realização de análises de determinação e quantificação de BTEX no biogás para verificar o efeito da microaeração na remoção de BTEX por volatilização. Além disso, análises de biologia molecular seriam interessantes para avaliar a dinâmica populacional da microbiota do reator durante todos os experimentos do presente estudo, possibilitando um melhor entendimento acerca do comportamento do sistema de tratamento observado durante as diversas condições testadas.

#### **7.4 Conclusões**

O sistema conseguiu lidar com os choques de carga de BTEX com intensidade de 2 a 3 vezes a carga usualmente aplicada. Entretanto, choques consecutivos aumentaram o tempo de recuperação de 2 para 6 dias.

O período de ausência de BTEX parece ter prejudicado a microbiota do reator, pois a qualidade do efluente deteriorou consideravelmente após reintrodução dos compostos.

Após religamento do sistema, foram necessários 14 dias de operação para que o reator atingisse um desempenho de remoção de BTEX estável, em que foram obtidas concentrações efluentes menores do que às registradas antes do período de desligamento.

O desligamento da microaeração impactou negativamente a remoção de BTEX, mas o sistema recuperou-se (~2 dias) rapidamente após restabelecimento das condições microaeróbias.

Não houve mudança no desempenho de remoção de DQO (~94%) durante todos os ensaios.



## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Hidrocarbonetos monoaromáticos, tais como benzeno, tolueno, etilbenzeno e os isômeros do xileno (BTEX), são importantes constituintes do petróleo bruto e de seus derivados, e se destacam na lista de poluentes prioritários da agência de proteção ambiental norte-americana (USEPA, *United States Environmental Protection Agency*) devido ao seu elevado potencial carcinogênico e mutagênico. Portanto, a partir do vazamento acidental de tubulações e tanques de armazenamento subterrâneos de combustíveis fósseis, os BTEX – os quais possuem solubilidade e mobilidade em água relativamente alta – podem contaminar extensivamente solos e aquíferos subterrâneos, comprometendo fontes de água potável. Nesse contexto, o presente estudo teve o objetivo de avaliar o uso de reatores biológicos, sob condições anaeróbias e microaeróbias, como opção de biorremediação *ex situ* de águas contaminadas com BTEX.

Para isso, primeiramente, foi necessário o desenvolvimento de um método analítico para a detecção e quantificação desses hidrocarbonetos aromáticos em águas e efluentes, o qual consistia em extração por *headspace* seguida de cromatografia gasosa com detecção por fotoionização. Os parâmetros de extração foram otimizados por meio de planejamento experimental multivariado do tipo delineamento composto central rotacional, o que possibilitou a obtenção de baixos limites de detecção e de quantificação. Além disso, não se observou efeito significativo da salinidade na determinação de BTEX, portanto o método analítico proposto pode ser aplicado a diferentes amostras aquosas.

Sob condições metanogênicas, as eficiências médias de remoção de BTEX variaram de 38 a 97%, sendo as menores obtidas para o benzeno (38-62%), e as maiores, para o tolueno (75-97%). Porém, o aumento da carga aplicada dos compostos aromáticos, em consequência da redução do tempo de detenção hidráulica do reator, parece ter afetado negativamente o processo de remoção, já que, muito provavelmente, não houve um crescimento celular proporcional dos microrganismos degradadores de BTEX devido às suas propriedades cinéticas específicas.

Ainda sob as mesmas condições, também se verificou o efeito da recirculação de efluente na remoção de BTEX. Quando altas concentrações de etanol foram utilizadas, o impacto da recirculação de efluente não foi evidente já que, provavelmente, a elevada produção de biogás teria sido suficiente para garantir uma transferência de massa efetiva. Por outro lado, com a redução da concentração de etanol, a transferência de massa,

aparentemente, passou a ser um fator limitante do processo, já que o efeito da recirculação de efluente foi bastante significativo.

A literatura reporta que, normalmente, a degradação anaeróbia de BTEX na presença de aceptores alternativos de elétrons, como sulfato e nitrato, é energeticamente mais favorável do que sob condições metanogênicas. Por isso, avaliou-se o desempenho de um reator sulfetogênico submetido a diversas relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Contudo, os resultados mostraram que a adição de diferentes concentrações de sulfato não alterou a remoção de BTEX, sugerindo que, diferentemente do que ocorre em culturas puras, em consórcios microbianos, aos quais interações sintróficas são inerentes, as bactérias redutoras de sulfato não estariam diretamente relacionadas à ativação inicial dos compostos aromáticos.

Sob condições microaeróbias, elevadas eficiências de remoção de BTEX foram alcançadas (> 80%). É provável que a adição de baixas concentrações de oxigênio (a partir do ar atmosférico) tenha facilitado a ativação inicial dos compostos BTEX, a qual é, normalmente, considerada a etapa limitante do processo de degradação anaeróbia, principalmente para o benzeno. Logo, provavelmente, alguns microrganismos, por meio de oxigenases, podem ter convertido os hidrocarbonetos aromáticos em intermediários fenólicos menos recalcitrantes sob condições anaeróbias, o que refletiu positivamente no desempenho de remoção do reator.

Ainda, constatou-se que a presença de altas concentrações de etanol (co-substrato) afetou negativamente a remoção de BTEX, notadamente para o benzeno, sob as diferentes condições redox testadas, já que é um substrato fácil e preferencialmente degradável em relação aos compostos aromáticos. Além disso, a degradação de elevadas concentrações de etanol pode resultar em um acúmulo transiente de acetato e hidrogênio – possíveis intermediários da degradação sintrófica de BTEX –, o que, provavelmente, inibiria esse processo, já que passaria a ser energeticamente desfavorável.

Com relação à robustez do reator sob condições microaeróbias, o sistema conseguiu lidar com os choques de carga de BTEX (2 a 3 vezes a carga usualmente aplicada) embora choques consecutivos tenham aumentado seu tempo de recuperação (de 2 para 6 dias). O período de ausência de BTEX parece ter prejudicado a microbiota do reator, pois a qualidade do efluente deteriorou consideravelmente após reintrodução dos compostos. Após religamento do sistema, foram necessários 14 dias de operação para que o reator atingisse um desempenho de remoção de BTEX estável, em que foram obtidas concentrações efluentes menores do que às registradas antes do período de desligamento. O desligamento da

microaeração impactou negativamente a remoção de BTEX, mas o sistema recuperou rapidamente (~ 2dias) após restabelecimento das condições microaeróbias.

Finalmente, o sistema de tratamento proposto, principalmente quando operado sob condições microaeróbias, mostrou-se como uma opção bem interessante para a biorremediação *ex situ* de águas contaminadas com BTEX em concentrações moderadas (2 a 5 mg·L<sup>-1</sup>), as quais são tipicamente alcançadas a partir de vazamentos de tanques subterrâneos de armazenamento de combustíveis fósseis, como a gasolina. As tecnologias de biorremediação *in situ*, apesar de serem consideradas operacionalmente mais simples, normalmente acontecem de forma mais lenta (atenuação natural), sendo necessária a injeção de aceptores alternativos de elétrons, como nitrato e sulfato, (bioestimulação) e/ou a introdução de microrganismos especialistas (bioaumentação) nos ambientes contaminados para aumentar a eficiência do processo de remediação. Porém, essas medidas podem comprometer a qualidade do aquífero subterrâneo, pois há a possibilidade do acúmulo de intermediários, como nitrito, a partir da redução de nitrato, ou de produtos finais, como sulfeto, a partir da redução de sulfato, os quais também são caracterizados como poluentes. Além disso, a bioaumentação pode causar um desequilíbrio na microbiota autóctone do ambiente contaminado. Logo, a tecnologia *ex situ* apresenta algumas vantagens em relação à *in situ*, tais como menor alteração do ambiente contaminado e maior controle das condições operacionais de tratamento a fim de melhorar sua eficiência. Ainda, verificou-se não ser obrigatório o uso de inóculo previamente adaptado a BTEX para o bom desempenho de remoção desses compostos, aumentando a flexibilidade no processo de inoculação do sistema de tratamento, especialmente para o caso de aplicação intermitente. Assim, o uso de reatores microaeróbios associados a sistemas de polimento (baseados nas diversas tecnologias atualmente disponíveis) possibilitam a obtenção de água com a qualidade suficiente para a reinjeção em aquíferos previamente contaminados com esses hidrocarbonetos. Adicionalmente, o uso de sistemas de tratamento modulares móveis para a remediação de águas subterrâneas contaminadas com gasolina pode ser uma opção econômica e tecnicamente viável, principalmente para localidades onde há baixa disponibilidade de corpos hídricos superficiais, e o uso de aquíferos subterrâneos é uma alternativa comum para o abastecimento de água para consumo humano.



**REFERÊNCIAS**

AEPPLI, C.; BERG, M.; HOFSTETTER, T. B.; KIPFER, R.; SCHWARZENBACH, R. P. Simultaneous quantification of polar and non-polar volatile organic compounds in water samples by direct aqueous injection-gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1181, n. 1-2, p. 116-124, 2008.

AIVALIOTI, M.; PAPOULIAS, P.; KOUSAITI, A.; GIDARAKOS, E. Adsorption of BTEX, MTBE and TAME on natural and modified diatomite. **Journal of Hazardous Materials**, v. 207-208, p. 117-127, 2012.

AMEND, J. P.; SHOCK, E. L. Energetics of overall metabolic reactions of thermophilic and hyperthermophilic Archaea and Bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 25, n. 2, p. 175-243, 2001.

ANDERS, H. J.; KAETZKE, A.; KÄMPFER, P.; LUDWIG, W.; FUCHS, G. Taxonomic position of aromatic-degrading denitrifying *Pseudomonad* strains K 172 and KB 740 and their description as new members of the genera *Thauera*, as *Thauera aromatica* sp. nov., and *Azoarcus*, as *Azoarcus evansii* sp. nov., respectively, members of the beta subclass of the Proteobacteria. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 45, n. 2, p. 327-333, 1995.

ANDERSON, R. T.; LOVLEY, D. R. Anaerobic bioremediation of benzene under sulfate-reducing conditions in a petroleum-contaminated aquifer. **Environmental Science and Technology**, v. 34, n. 11, p. 2261-2266, 2000.

ANVISA. **Resolução - RE N° 899 - Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2003.

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21st ed. Washington: American Public Health Association, 2005.

AYOTAMUNO, M. J.; KOGBARA, R. B.; OGAJI, S. O. T.; PROBERT, S. D. Petroleum contaminated ground-water: Remediation using activated carbon. **Applied Energy**, v. 83, n. 11, p. 1258-1264, 2006.

BALL, H. A.; JOHNSON, H. A.; REINHARD, M.; SPORMANN, A. M. Initial reactions in anaerobic ethylbenzene oxidation by a denitrifying bacterium, strain EB1. **Journal of Bacteriology**, v. 178, n. 19, p. 5755-61, 1996.

BIANCHI, F.; CARERI, M.; MARENGO, E.; MUSCI, M. Use of experimental design for the purge-and-trap-gas chromatography–mass spectrometry determination of methyl *tert.*-butyl ether, *tert.*-butyl alcohol and BTEX in groundwater at trace level. **Journal of Chromatography A**, v. 975, n. 1, p. 113-121, 2002.

BIANCHIN, J. N.; NARDINI, G.; MERIB, J.; DIAS, A. N.; MARTENDAL, E.; CARASEK, E. Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and benzene, toluene, ethylbenzene and xylene in water samples using a new sampling strategy combining different extraction modes and temperatures in a single extraction solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry procedure. **Journal of Chromatography A**, v. 1233, p. 22-29, 2012.

BITTKAU, A.; GEYER, R.; BHATT, M.; SCHLOSSER, D. Enhancement of the biodegradability of aromatic groundwater contaminants. **Toxicology**, v. 205, n. 3, p. 201-210, 2004.

BORDEN, R. C.; GOMEZ, C. A.; BECKER, M. T. Geochemical indicators of intrinsic bioremediation. **Ground Water**, v. 33, n. 2, p. 180-189, 1995.

BUCHAUER, K. A comparison of two simple titration procedures to determine volatile fatty acids in influents to waste-water and sludge treatment processes. **Water SA**, v. 24, n. 1, p. 49-56, 1998.

BUZZINI, A. P.; PIRES, E. C. Evaluation of a upflow anaerobic sludge blanket reactor with partial recirculation of effluent used to treat wastewaters from pulp and paper plants. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 9, p. 1838-1848, 2007.



BUZZINI, A. P.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B.; PIRES, E. C. Evaluation of the microbial diversity in an UASB reactor treating wastewater from an unbleached pulp plant. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 1, p. 168-176, 2006.

CAI, J.; ZHENG, P.; MAHMOOD, Q. Simultaneous sulfide and nitrate removal in anaerobic reactor under shock loading. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 12, p. 3010-3014, 2009.

CAI, J.; ZHENG, P.; MAHMOOD, Q. Influence of transient pH and substrate shocks on simultaneous anaerobic sulfide and nitrate removal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 174, n. 1-3, p. 162-166, 2010.

CALLADO, N. R.; SILVA, J. B.; LOPES, J. Levantamento das fontes geradoras de resíduos de petróleo no estado de Alagoas. In: KATO, M. T. (Ed.). **Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo: 1ª coletânea de trabalhos técnicos**. Recife: Editora Universitária da UFPE, 2006. p. 15-30.

CARMONA, M.; ZAMARRO, M. T.; BLÁZQUEZ, B.; DURANTE-RODRÍGUEZ, G.; JUÁREZ, J. F.; VALDERRAMA, J. A.; BARRAGÁN, M. J. L.; GARCÍA, J. L.; DÍAZ, E. Anaerobic catabolism of aromatic compounds: a genetic and genomic view. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 73, n. 1, p. 71-133, 2009.

CARO, J.; SERRANO, A.; GALLEGOS, M. Direct screening and confirmation of priority volatile organic pollutants in drinking water. **Journal of Chromatography A**, v. 1138, n. 1-2, p. 244-250, 2007.

CATTONY, E. B. M.; CHINALIA, F. A.; RIBEIRO, R.; ZAIAT, M.; FORESTI, E.; VARESCHE, M. B. A. Ethanol and toluene removal in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor in the presence of sulfate. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 91, n. 2, p. 244-253, 2005.

CATTONY, E. B. M.; RIBEIRO, R.; ZAIAT, M.; FORESTI, E.; VARESCHE, M. B. A. Ethanol and benzene removal in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor in the presence of sulfate. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, n. 2, p. 181-191, 2007.

CAVALCANTE, R. M.; DE ANDRADE, M. V. F.; MARINS, R. V.; OLIVEIRA, L. D. M. Development of a headspace-gas chromatography (HS-GC-PID-FID) method for the determination of VOCs in environmental aqueous matrices: Optimization, verification and elimination of matrix effect and VOC distribution on the Fortaleza Coast, Brazil.

**Microchemical Journal**, v. 96, n. 2, p. 337-343, 2010.

CERVANTES, F. J.; DIJKSMA, W.; DUONG-DAC, T.; IVANOVA, A.; LETTINGA, G.; FIELD, J. A. Anaerobic mineralization of toluene by enriched sediments with quinones and humus as terminal electron acceptors. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 10, p. 4471-4478, 2001.

CERVANTES, F. J.; MANCILLA, A. R.; RIOS-DEL TORO, E. E.; ALPUCHE-SOLIS, A. G.; MONTOYA-LORENZANA, L. Anaerobic degradation of benzene by enriched consortia with humic acids as terminal electron acceptors. **Journal of Hazardous Materials**, v. 195, p. 201-207, 2011.

CHAI, X.-S.; FALABELLA, J. B.; TEJA, A. S. A relative headspace method for Henry's constants of volatile organic compounds. **Fluid Phase Equilibria**, v. 231, n. 2, p. 239-245, 2005.

CHAKRABORTY, R.; O'CONNOR, S. M.; CHAN, E.; COATES, J. D. Anaerobic degradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene compounds by *Dechloromonas* strain RCB. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 12, p. 8649-8655, 2005.

CHEN, Y. D.; BARKER, J. F.; GUI, L. A strategy for aromatic hydrocarbon bioremediation under anaerobic conditions and the impacts of ethanol: A microcosm study. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 96, n. 1-4, p. 17-31, 2008.

COATES, J. D.; ANDERSON, R. T. Emerging techniques for anaerobic bioremediation of contaminated environments. **Trends in Biotechnology**, v. 18, n. 10, p. 408-412, 2000.

COATES, J. D.; CHAKRABORTY, R.; LACK, J. G.; O'CONNOR, S. M.; COLE, K. A.; BENDER, K. S.; ACHENBACH, L. A. Anaerobic benzene oxidation coupled to nitrate

reduction in pure culture by two strains of *Dechloromonas*. **Nature**, v. 411, n. 6841, p. 1039-1043, 2001.

COATES, J. D.; CHAKRABORTY, R.; MCINERNEY, M. J. Anaerobic benzene biodegradation—a new era. **Research in Microbiology**, v. 153, n. 10, p. 621-628, 2002.

CONAMA. **Resolução Nº 396 - Classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas**. Brasília: Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2008.

CONAMA. **Resolução Nº 430 - Condições e padrões de lançamento de efluentes**. Brasília: Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2011.

CORSEUIL, H. X.; HUNT, C. S.; DOS SANTOS, R. C. F.; ALVAREZ, P. J. J. The influence of the gasoline oxygenate ethanol on aerobic and anaerobic BTX biodegradation. **Water Research**, v. 32, n. 7, p. 2065-2072, 1998.

CORSEUIL, H. X.; MONIER, A. L.; FERNANDES, M.; SCHNEIDER, M. R.; NUNES, C. C.; DO ROSARIO, M.; ALVAREZ, P. J. J. BTEX plume dynamics following an ethanol blend release: geochemical footprint and thermodynamic constraints on natural attenuation. **Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 8, p. 3422-3429, 2011.

CUNNINGHAM, J. A.; HOPKINS, G. D.; LEBRON, C. A.; REINHARD, M. Enhanced anaerobic bioremediation of groundwater contaminated by fuel hydrocarbons at Seal Beach, California. **Biodegradation**, v. 11, n. 2-3, p. 159-170, 2000.

CUPPLES, A. M. The use of nucleic acid based stable isotope probing to identify the microorganisms responsible for anaerobic benzene and toluene biodegradation. **Journal of Microbiological Methods**, v. 85, n. 2, p. 83-91, 2011.

DA SILVA, M. L. B.; RUIZ-AGUILAR, G. M. L.; ALVAREZ, P. J. J. Enhanced anaerobic biodegradation of BTEX-ethanol mixtures in aquifer columns amended with sulfate, chelated ferric iron or nitrate. **Biodegradation**, v. 16, n. 2, p. 105-114, 2005.

DAIFULLAH, A. A. M.; GIRGIS, B. S. Impact of surface characteristics of activated carbon on adsorption of BTEX. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 214, n. 1-3, p. 181-193, 2003.

DE NARDI, I. R.; RIBEIRO, R.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Anaerobic packed-bed reactor for bioremediation of gasoline-contaminated aquifers. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 587-592, 2005.

DE NARDI, I. R.; VARESCHE, M. B. A.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Anaerobic degradation of BTEX in a packed-bed reactor. **Water Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 175-180, 2002.

DE NARDI, I. R.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Kinetics of BTEX degradation in a packed-bed anaerobic reactor. **Biodegradation**, v. 18, n. 1, p. 83-90, 2007.

DEL POZO, R.; DIEZ, V.; BELTRÁN, S. Anaerobic pre-treatment of slaughterhouse wastewater using fixed-film reactors. **Bioresource Technology**, v. 71, n. 2, p. 143-149, 2000.

DEMEESTERE, K.; DEWULF, J.; DE WITTE, B.; VAN LANGENHOVE, H. Sample preparation for the analysis of volatile organic compounds in air and water matrices. **Journal of Chromatography A**, v. 1153, n. 1-2, p. 130-144, 2007.

DEMIREL, B.; YENIGÜN, O. Two-phase anaerobic digestion processes: a review. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 77, n. 7, p. 743-755, 2002.

DEWULF, J.; VAN LANGENHOVE, H. Anthropogenic volatile organic compounds in ambient air and natural waters: a review on recent developments of analytical methodology, performance and interpretation of field measurements. **Journal of Chromatography A**, v. 843, n. 1-2, p. 163-177, 1999.

DÍAZ, I.; FDZ-POLANCO, M. Robustness of the microaerobic removal of hydrogen sulfide from biogas. **Water Science and Technology**, v. 65, n. 8, p. 1368-1374, 2012.

DÍAZ, I.; PÉREZ, S. I.; FERRERO, E. M.; FDZ-POLANCO, M. Effect of oxygen dosing point and mixing on the microaerobic removal of hydrogen sulphide in sludge digesters.

**Bioresource Technology**, v. 102, n. 4, p. 3768-3775, 2011.

DONAIRE, P. P. R. **Tratamento de água subterrânea contaminada com BTEX utilizando fotocatalise heterogênea**. 2007. Tese de doutorado. Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

DOS SANTOS, D. P. **Determinação eletroquímica de fenóis após processo de degradação de benzeno usando sensor à base de nanotubos de carbono-ftalocianina de cobalto**. 2012. Dissertação de mestrado. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

DOTT, W.; FEIDIEKER, D.; STEIOF, M.; BECKER, P. M.; KÄMPFER, P. Comparison of *ex situ* and *in situ* techniques for bioremediation of hydrocarbon-polluted soils. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 35, n. 1-3, p. 301-316, 1995.

DOU, J.; DING, A.; LIU, X.; DU, Y.; DENG, D.; WANG, J. Anaerobic benzene biodegradation by a pure bacterial culture of *Bacillus cereus* under nitrate reducing conditions. **Journal of Environmental Sciences**, v. 22, n. 5, p. 709-715, 2010.

DOU, J.; LIU, X.; HU, Z. Substrate interactions during anaerobic biodegradation of BTEX by the mixed cultures under nitrate reducing conditions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 158, n. 2-3, p. 264-272, 2008.

DOU, J.; LIU, X.; HU, Z.; DENG, D. Anaerobic BTEX biodegradation linked to nitrate and sulfate reduction. **Journal of Hazardous Materials**, v. 151, n. 2-3, p. 720-729, 2008.

EDWARDS, E. A.; GRBIĆ-GALIĆ, D. Complete mineralization of benzene by aquifer microorganisms under strictly anaerobic conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 8, p. 2663-2666, 1992.

EDWARDS, E. A.; GRBIĆ-GALIĆ, D. Anaerobic degradation of toluene and o-xylene by a methanogenic consortium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, n. 1, p. 313-322, 1994.

- EDWARDS, E. A.; WILLS, L. E.; REINHARD, M.; GRBIĆ-GALIĆ, D. Anaerobic degradation of toluene and xylene by aquifer microorganisms under sulfate-reducing conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 3, p. 794-800, 1992.
- ENRIGHT, A. M.; COLLINS, G.; O'FLAHERTY, V. Low-temperature anaerobic biological treatment of toluene-containing wastewater. **Water Research**, v. 41, n. 7, p. 1465-1472, 2007.
- ES'HAGHI, Z.; EBRAHIMI, M.; HOSSEINI, M. S. Optimization of a novel method for determination of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes in hair and waste water samples by carbon nanotubes reinforced sol-gel based hollow fiber solid phase microextraction and gas chromatography using factorial experimental design. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 21, p. 3400-3406, 2011.
- EVANS, P. J.; MANG, D. T.; KIM, K. S.; YOUNG, L. Y. Anaerobic degradation of toluene by a denitrifying bacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, n. 4, p. 1139-1145, 1991.
- EZQUERRO, Ó.; ORTIZ, G.; PONS, B.; TENA, M. A. T. Determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in soils by multiple headspace solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1035, n. 1, p. 17-22, 2004.
- FARHADIAN, M.; DUCHEZ, D.; GAUDET, G.; LARROCHE, C. Biodegradation of toluene at high initial concentration in an organic–aqueous phase bioprocess with nitrate respiration. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 11, p. 1758-1762, 2010.
- FARHADIAN, M.; DUCHEZ, D.; VACHELARD, C.; LARROCHE, C. Monoaromatics removal from polluted water through bioreactors—A review. **Water Research**, v. 42, n. 6-7, p. 1325-1341, 2008.
- FARHADIAN, M.; DUCHEZ, D.; VACHELARD, C.; LARROCHE, C. Accurate quantitative determination of monoaromatic compounds for the monitoring of bioremediation processes. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 173-178, 2009.

FERNANDES, B. S.; CHINALIA, F. A.; SARTI, A.; SILVA, A. J.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Influence of the addition of sulphate and ferric ions in a methanogenic anaerobic packed-bed reactor treating gasoline-contaminated water. **Water Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 135-141, 2006.

FERNÁNDEZ-POLANCO, M.; GARCÍA-ENCINA, P. A. Application of biological treatment systems for sulfate-rich wastewaters. In: CERVANTES, F. J.; VAN HAANDEL, A. C.; PAVLOSTATHIS, S. G. (Ed.). **Advanced biological treatment processes for industrial wastewaters**. London: International Water Association, 2006. p. 213-236.

FERREIRA, S. L.; BRUNS, R. E.; DA SILVA, E. G.; DOS SANTOS, W. N.; QUINTELLA, C. M.; DAVID, J. M.; DE ANDRADE, J. B.; BREITKREITZ, M. C.; JARDIM, I. C.; BARROS NETO, B. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. **Journal of Chromatography A**, v. 1158, n. 1-2, p. 2-14, 2007.

FICKER, M.; KRASTEL, K.; ORLICKY, S.; EDWARDS, E. Molecular characterization of a toluene-degrading methanogenic consortium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 12, p. 5576-5585, 1999.

FIRMINO, P. I. M.; SILVA, M. E. R.; CERVANTES, F. J.; DOS SANTOS, A. B. Colour removal of dyes from synthetic and real textile wastewaters in one- and two-stage anaerobic systems. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 20, p. 7773-7779, 2010.

FOGHT, J. Anaerobic biodegradation of aromatic hydrocarbons: pathways and prospects. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, v. 15, n. 2-3, p. 93-120, 2008.

FORTE, E. J.; AZEVEDO, M. S.; OLIVEIRA, R. C. D.; ALMEIDA, R. D. Contaminação de aquífero por hidrocarbonetos: estudo de caso na Vila Tupi, Porto Velho - Rondônia. **Química Nova**, v. 30, p. 1539-1544, 2007.

FOWLER, S. J.; DONG, X.; SENSEN, C. W.; SUFLITA, J. M.; GIEG, L. M. Methanogenic toluene metabolism: community structure and intermediates. **Environmental Microbiology**, v. 14, n. 3, p. 754-764, 2012.

FRIES, M. R.; ZHOU, J.; CHEE-SANFORD, J.; TIEDJE, J. M. Isolation, characterization, and distribution of denitrifying toluene degraders from a variety of habitats. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, n. 8, p. 2802-2810, 1994.

FUCHS, G. Anaerobic metabolism of aromatic compounds. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1125, n. 1, p. 82-99, 2008.

GAUJAC, A.; EMIDIO, E. S.; NAVICKIENE, S.; FERREIRA, S. L.; DOREA, H. S. Multivariate optimization of a solid phase microextraction-headspace procedure for the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in effluent samples from a waste treatment plant. **Journal of Chromatography A**, v. 1203, n. 1, p. 99-104, 2008.

GOBATO, E. A. A. F.; LANÇAS, F. M. Comparison between on-column injection and dynamic headspace in the determination of benzene, toluene and xylene (BTX) in water. **Química Nova**, v. 24, p. 176-179, 2001.

GOLFINOPOULOS, S. K.; LEKKAS, T. D.; NIKOLAOU, A. D. Comparison of methods for determination of volatile organic compounds in drinking water. **Chemosphere**, v. 45, n. 3, p. 275-284, 2001.

GUERIN, T. F. A pilot study for the selection of a bioreactor for remediation of groundwater from a coal tar contaminated site. **Journal of Hazardous Materials**, v. 89, n. 2-3, p. 241-252, 2002.

GUSMÃO, V. R. **Caracterização microbiológica de cultura desnitrificante de reator anaeróbio horizontal de leito fixo na remoção de BTEX**. 2005. Tese de doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

GUSMÃO, V. R.; CHINALIA, F. A.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A. Performance of a reactor containing denitrifying immobilized biomass in removing ethanol and aromatic hydrocarbons (BTEX) in a short operating period. **Journal of Hazardous Materials**, v. 139, n. 2, p. 301-309, 2007.



GUSMÃO, V. R.; MARTINS, T. H.; CHINALIA, F. A.; SAKAMOTO, I. K.; HENRIQUETHIEMANN, O.; VARESCHE, M. B. A. BTEX and ethanol removal in horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor, under denitrifying condition. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 6, p. 1391-1400, 2006.

HACK, C. J.; WOODLEY, J. M.; LILLY, M. D.; LIDDELL, J. M. The production of *Pseudomonas putida* for the hydroxylation of toluene to its *cis*-glycol. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 41, n. 5, p. 495-499, 1994.

HAN, D.; MA, W.; CHEN, D. Determination of biodegradation products from benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in seawater by purge and trap gas chromatography. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 34, n. 10, p. 1361-1365, 2006.

HARMS, G.; ZENGLER, K.; RABUS, R.; AECKERSBERG, F.; MINZ, D.; ROSSELLÓ-MORA, R.; WIDDEL, F. Anaerobic oxidation of o -xylene, m -xylene, and homologous alkylbenzenes by new types of sulfate-reducing bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 3, p. 999-1004, 1999.

HASHEMI, M.; JAHANSHAHI, N.; HABIBI, A. Application of ultrasound-assisted emulsification microextraction for determination of benzene, toluene, ethylbenzene and o-xylene in water samples by gas chromatography. **Desalination**, v. 288, p. 93-97, 2012.

HELENO, F. F.; LIMA, A. C.; AFONSO, R. J. C. F.; COUTRIM, M. X. Evaluation of analytical methods for BTEX analysis in water using extraction by headspace (HS) and solid phase microextraction (SPME). **Química Nova**, v. 33, p. 329-336, 2010.

HERRMANN, S.; KLEINSTEUBER, S.; CHATZINOTAS, A.; KUPPARDT, S.; LUEDERS, T.; RICHNOW, H.-H.; VOGT, C. Functional characterization of an anaerobic benzene-degrading enrichment culture by DNA stable isotope probing. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 2, p. 401-411, 2010.

HU, Z.-F.; DOU, J.-F.; LIU, X.; ZHENG, X.-L.; DENG, D. Anaerobic biodegradation of benzene series compounds by mixed cultures based on optional electronic acceptors. **Journal of Environmental Sciences**, v. 19, n. 9, p. 1049-1054, 2007.

HULSHOFF POL, L. W.; LENS, P. N. L.; STAMS, A. J. M.; LETTINGA, G. Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewaters. **Biodegradation**, v. 9, n. 3-4, p. 213-224, 1998.

JEONG, T.-Y.; CHA, G.-C.; SEO, Y.-C.; JEON, C.; CHOI, S. S. Effect of COD/sulfate ratios on batch anaerobic digestion using waste activated sludge. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 14, n. 5, p. 693-697, 2008.

JEONG, T.-Y.; CHUNG, H.-K.; YEOM, S. H.; CHOI, S. S. Analysis of methane production inhibition for treatment of sewage sludge containing sulfate using an anaerobic continuous degradation process. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 26, n. 5, p. 1319-1322, 2009.

JO, M.-S.; RENE, E. R.; KIM, S.-H.; PARK, H.-S. An analysis of synergistic and antagonistic behavior during BTEX removal in batch system using response surface methodology. **Journal of Hazardous Materials**, v. 152, n. 3, p. 1276-1284, 2008a.

JO, M.-S.; RENE, E. R.; KIM, S.-H.; PARK, H.-S. Removal of BTEX compounds by industrial sludge microbes in batch systems: statistical analysis of main and interaction effects. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 73-78, 2008b.

JOCHMANN, M. A.; YUAN, X.; SCHMIDT, T. C. Determination of volatile organic hydrocarbons in water samples by solid-phase dynamic extraction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 6, p. 2163-2174, 2007.

JOHNSON, H. A.; PELLETIER, D. A.; SPORMANN, A. M. Isolation and characterization of anaerobic ethylbenzene dehydrogenase, a novel Mo-Fe-S enzyme. **Journal of Bacteriology**, v. 183, n. 15, p. 4536-4542, 2001.

JUTEAU, P.; LAROCQUE, R.; RHO, D.; LEDUY, A. Analysis of the relative abundance of different types of bacteria capable of toluene degradation in a compost biofilter. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 52, n. 6, p. 863-868, 1999.

KAMAL, M. A.; KLEIN, P. Estimation of BTEX in groundwater by using gas chromatography–mass spectrometry. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 17, n. 3, p. 205-208, 2010.

KASAI, Y.; TAKAHATA, Y.; MANEFIELD, M.; WATANABE, K. RNA-based stable isotope probing and isolation of anaerobic benzene-degrading bacteria from gasoline-contaminated groundwater. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 5, p. 3586-3592, 2006.

KERMANSHAHI POUR, A.; KARAMANEV, D.; MARGARITIS, A. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in an immobilized cell airlift bioreactor. **Water Research**, v. 39, n. 15, p. 3704-3714, 2005.

KETOLA, R. A.; VIRKKI, V. T.; OJALA, M.; KOMPPA, V.; KOTIAHO, T. Comparison of different methods for the determination of volatile organic compounds in water samples. **Talanta**, v. 44, n. 3, p. 373-382, 1997.

KLEINSTEUBER, S.; SCHLEINITZ, K. M.; BREITFELD, J.; HARMS, H.; RICHNOW, H. H.; VOGT, C. Molecular characterization of bacterial communities mineralizing benzene under sulfate-reducing conditions. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 66, n. 1, p. 143-157, 2008.

KNIEMEYER, O.; FISCHER, T.; WILKES, H.; GLÖCKNER, F. O.; WIDDEL, F. Anaerobic degradation of ethylbenzene by a new type of marine sulfate-reducing bacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 2, p. 760-768, 2003.

KOLB, B. Headspace sampling with capillary columns. **Journal of Chromatography A**, v. 842, n. 1-2, p. 163-205, 1999.

KOLB, B.; ETTRE, L. S. **Static headspace-gas chromatography: theory and practice**. 2nd ed. Hoboken: Wiley, 2006.

KRAAKMAN, N. J. R. Robustness of a full-scale biological system treating industrial CS<sub>2</sub> emissions. **Environmental Progress**, v. 22, n. 2, p. 79-85, 2003.

KRIEGER, C. J.; BELLER, H. R.; REINHARD, M.; SPORMANN, A. M. Initial reactions in anaerobic oxidation of m-xylene by the denitrifying bacterium *Azoarcus* sp. strain T. **Journal of Bacteriology**, v. 181, n. 20, p. 6403-6410, 1999.

KUBINEC, R.; ADAMUŠČIN, J.; JURDÁKOVÁ, H.; FOLTIN, M.; OSTROVSKÝ, I.; KRAUS, A.; SOJÁK, L. Gas chromatographic determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes using flame ionization detector in water samples with direct aqueous injection up to 250 µl. **Journal of Chromatography A**, v. 1084, n. 1-2, p. 90-94, 2005.

LABAN, N. A.; SELESI, D.; JOBELIUS, C.; MECKENSTOCK, R. U. Anaerobic benzene degradation by Gram-positive sulfate-reducing bacteria. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 68, n. 3, p. 300-311, 2009.

LANGENHOFF, A. A. M.; ZEHNDER, A. J. B.; SCHRAA, G. Behaviour of toluene, benzene and naphthalene under anaerobic conditions in sediment columns. **Biodegradation**, v. 7, n. 3, p. 267-274, 1996.

LANGWALDT, J. H.; PUHAKKA, J. A. On-site biological remediation of contaminated groundwater: a review. **Environmental Pollution**, v. 107, n. 2, p. 187-197, 2000.

LEITÃO, R. C. **Robustness of UASB reactors treating sewage under tropical conditions**. 2004. PhD Thesis. Sub-department of Environmental Technology, Wageningen University, Wageningen.

LEITÃO, R. C.; VAN HAANDEL, A. C.; ZEEMAN, G.; LETTINGA, G. The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: A review. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 9, p. 1105-1118, 2006.

LEMA, J. M.; OMIL, F. Anaerobic treatment: a key technology for a sustainable management of wastes in Europe. **Water Science and Technology**, v. 44, n. 8, p. 133-140, 2001.

LETTINGA, G.; HULSHOFF POL, L. W. UASB process designs for various types of wastewaters. **Water Science and Technology**, v. 24, n. 8, p. 87-107, 1991.

LEUTHNER, B.; HEIDER, J. A two-component system involved in regulation of anaerobic toluene metabolism in *Thauera aromatica*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 166, n. 1, p. 35-41, 1998.

LIAMLEAM, W.; ANNACHHATRE, A. P. Electron donors for biological sulfate reduction. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 5, p. 452-463, 2007.

LIGERO, P.; DE VEGA, A.; SOTO, M. Influence of HRT (hydraulic retention time) and SRT (solid retention time) on the hydrolytic pre-treatment of urban wastewater. **Water Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 7-14, 2001.

LOPES, A. C. **Tratamiento anaerobio y microaerobio de aguas ricas en sulfato**. 2010. Tesis doctoral. Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente, Universidad de Valladolid, Valladolid.

LOURENÇO, E. S. O. **Avaliação físico-química da remediação de solos contaminados por BTEX**. 2006. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel.

MANOHAR, S.; KAREGOUDAR, T. B. Degradation of naphthalene by cells of *Pseudomonas* sp. strain NGK 1 immobilized in alginate, agar and polyacrylamide. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 49, n. 6, p. 785-792, 1998.

MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, S.; OLGUÍN, E. J.; GÓMEZ, J.; CUERVO-LÓPEZ, F. M. Acetate enhances the specific consumption rate of toluene under denitrifying conditions. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 57, n. 4, p. 679-687, 2009.

MARTÍNEZ, S.; CUERVO-LÓPEZ, F. M.; GOMEZ, J. Toluene mineralization by denitrification in an up flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 9, p. 1717-1723, 2007.

MAZZEO, D. E. C.; LEVY, C. E.; DE ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. BTEX biodegradation by bacteria from effluents of petroleum refinery. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 20, p. 4334-4340, 2010.

MCKEOWN, R. M.; COLLINS, G.; CHINALIA, F. A.; MAHONY, T.; O'FLAHERTY, V. Low temperature anaerobic biotreatment of priority pollutants. **Water Science and Technology**, v. 57, n. 4, p. 499-503, 2008.

MECHICHI, T.; STACKEBRANDT, E.; GAD'ON, N.; FUCHS, G. Phylogenetic and metabolic diversity of bacteria degrading aromatic compounds under denitrifying conditions, and description of *Thauera phenylacetica* sp. nov., *Thauera aminoaromatica* sp. nov., and *Azoarcus buckelii* sp. nov. **Archives of Microbiology**, v. 178, n. 1, p. 26-35, 2002.

MECKENSTOCK, R. U.; WARTHMAN, R. J.; SCHÄFER, W. Inhibition of anaerobic microbial o-xylene degradation by toluene in sulfidogenic sediment columns and pure cultures. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 47, n. 3, p. 381-386, 2004.

MELLO, J. M. M. **Biodegradação dos BTEX em um reator com biofilme**. 2007. Dissertação de mestrado. Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MENÉNDEZ, J. □. F.; SÁN□HEZ, M. L. F.; URÍA, J. E. S.; MARTÍNEZ, E. F.; SANZ-MEDEL, A. Static headspace, solid-phase microextraction and headspace solid-phase microextraction for BTEX determination in aqueous samples by gas chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 415, n. 1-2, p. 9-20, 2000.

MOHAN, S. V.; BABU, V. L.; BHASKAR, Y. V.; SARMA, P. N. Influence of recirculation on the performance of anaerobic sequencing batch biofilm reactor (AnSBBR) treating hypersaline composite chemical wastewater. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 7, p. 1373-1379, 2007.

MORASCH, B.; SCHINK, B.; TEBBE, C. C.; MECKENSTOCK, R. U. Degradation of o-xylene and m-xylene by a novel sulfate-reducer belonging to the genus *Desulfotomaculum*. **Archives of Microbiology**, v. 181, n. 6, p. 407-417, 2004.

MORLETT-CHÁVEZ, J. A.; ASCACIO-MARTÍNEZ, J. Á.; RIVAS-ESTILLA, A. M.; VELÁZQUEZ-VADILLO, J. F.; HASKINS, W. E.; BARRERA-SALDAÑA, H. A.; ACUÑA-ASKAR, K. Kinetics of BTEX biodegradation by a microbial consortium acclimatized to unleaded gasoline and bacterial strains isolated from it. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 64, n. 7, p. 581-587, 2010.

MOZO, I.; LESAGE, G.; YIN, J.; BESSIERE, Y.; BARNA, L.; SPERANDIO, M. Dynamic modeling of biodegradation and volatilization of hazardous aromatic substances in aerobic bioreactor. **Water Research**, v. 46, n. 16, p. 5327-5342, 2012.

MS. **Portaria Nº 2.914 - Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

MUYZER, G.; STAMS, A. J. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. **Nature Reviews: Microbiology**, v. 6, n. 6, p. 441-454, 2008.

NAKHLA, G. Biokinetic modeling of in situ bioremediation of BTX compounds—impact of process variables and scaleup implications. **Water Research**, v. 37, n. 6, p. 1296-1307, 2003.

NEWELL, C. J.; CONNOR, J. A. **Characteristics of dissolved petroleum hydrocarbon plumes**. American Petroleum Institute, p.1-8. 1998

O'FLAHERTY, V.; COLLERAN, E. Effect of sulphate addition on volatile fatty acid and ethanol degradation in an anaerobic hybrid reactor. I: process disturbance and remediation. **Bioresource Technology**, v. 68, n. 2, p. 101-107, 1999.

O'FLAHERTY, V.; COLOHAN, S.; MULKERRINS, D.; COLLERAN, E. Effect of sulphate addition on volatile fatty acid and ethanol degradation in an anaerobic hybrid reactor. II: microbial interactions and toxic effects. **Bioresource Technology**, v. 68, n. 2, p. 109-120, 1999.

O'FLAHERTY, V.; MAHONY, T.; O'KENNEDY, R.; COLLERAN, E. Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria. **Process Biochemistry**, v. 33, n. 5, p. 555-569, 1998.

OHLEN, K.; CHANG, Y. K.; HEGEMANN, W.; YIN, C. R.; LEE, S. T. Enhanced degradation of chlorinated ethylenes in groundwater from a paint contaminated site by two-stage fluidized-bed reactor. **Chemosphere**, v. 58, n. 3, p. 373-377, 2005.

OLIVEIRA, E. C.; FÉLIX, J. P. L.; LEITÃO, R. C.; MELO, V. M. M.; SANTAELLA, S. T. Degradação de fenóis por leveduras presentes em águas residuárias de refinarias de petróleo. In: KATO, M. T. (Ed.). **Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo: 1ª coletânea de trabalhos técnicos**. Recife: Editora Universitária da UFPE, 2006. p. 133-148.

OLSEN, R. H.; KUKOR, J. J.; KAPHAMMER, B. A novel toluene-3-monooxygenase pathway cloned from *Pseudomonas pickettii* PKO1. **Journal of Bacteriology**, v. 176, n. 12, p. 3749-3756, 1994.

OMMEDAL, H.; TORSVIK, T. *Desulfotignum toluenicum* sp. nov., a novel toluene-degrading, sulphate-reducing bacterium isolated from an oil-reservoir model column. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. 12, p. 2865-2869, 2007.

PAIXÃO, J. F.; NASCIMENTO, I. A.; PEREIRA, S. A.; LEITE, M. B.; CARVALHO, G. C.; SILVEIRA JR., J. S.; REBOUÇAS, M.; MATIAS, G. R.; RODRIGUES, I. L. Estimating the gasoline components and formulations toxicity to microalgae (*Tetraselmis chuii*) and oyster (*Crassostrea rhizophorae*) embryos: an approach to minimize environmental pollution risk. **Environmental Research**, v. 103, n. 3, p. 365-374, 2007.

PAVÓN, J. L. P.; SÁNCHEZ, M. N.; LAESPADA, M. E. F.; CORDERO, B. M. Simultaneous determination of gasoline oxygenates and benzene, toluene, ethylbenzene and xylene in water samples using headspace-programmed temperature vaporization-fast gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1175, n. 1, p. 106-111, 2007.



PERALTA-ZAMORA, P.; MORAIS, J. L.; NAGATA, N. Why multivariate optimization? **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, p. 106-110, 2005.

PHELPS, C. D.; YOUNG, L. Y. Anaerobic biodegradation of BTEX and gasoline in various aquatic sediments. **Biodegradation**, v. 10, n. 1, p. 15-25, 1999.

PRUDEN, A.; SEDRAN, M.; SUIDAN, M.; VENOSA, A. Biodegradation of MTBE and BTEX in an aerobic fluidized bed reactor. **Water Science and Technology**, v. 47, n. 9, p. 123-128, 2003.

QUAN, X.; WANG, W.; YANG, Z.; LIN, C.; HE, M. Continuous removal of aromatic hydrocarbons by an AF reactor under denitrifying conditions. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, n. 12, p. 1711-1717, 2007.

RABUS, R.; KUBE, M.; BECK, A.; WIDDEL, F.; REINHARDT, R. Genes involved in the anaerobic degradation of ethylbenzene in a denitrifying bacterium, strain EbN1. **Archives of Microbiology**, v. 178, n. 6, p. 506-516, 2002.

RABUS, R.; NORDHAUS, R.; LUDWIG, W.; WIDDEL, F. Complete oxidation of toluene under strictly anoxic conditions by a new sulfate-reducing bacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 5, p. 1444-1451, 1993.

RABUS, R.; WIDDEL, F. Anaerobic degradation of ethylbenzene and other aromatic hydrocarbons by new denitrifying bacteria. **Archives of Microbiology**, v. 163, n. 2, p. 96-103, 1995.

RABUS, R.; WILKES, H.; BEHRENDT, A.; ARMSTROFF, A.; FISCHER, T.; PIERIK, A. J.; WIDDEL, F. Anaerobic initial reaction of n-alkanes in a denitrifying bacterium: Evidence for (1-methylpentyl)succinate as initial product and for involvement of an organic radical in n-hexane metabolism. **Journal of Bacteriology**, v. 183, n. 5, p. 1707-1715, 2001.

RAKOCZY, J.; SCHLEINITZ, K. M.; MÜLLER, N.; RICHNOW, H. H.; VOGT, C. Effects of hydrogen and acetate on benzene mineralisation under sulphate-reducing conditions.

**FEMS Microbiology Ecology**, v. 77, n. 2, p. 238-247, 2011.

RAMAKRISHNAN, A.; GUPTA, S. K. Effect of effluent recycling and shock loading on the biodegradation of complex phenolic mixture in hybrid UASB reactors. **Bioresource**

**Technology**, v. 99, n. 9, p. 3745-3753, 2008a.

RAMAKRISHNAN, A.; GUPTA, S. K. Effect of hydraulic retention time on the biodegradation of complex phenolic mixture from simulated coal wastewater in hybrid UASB reactors. **Journal of Hazardous Materials**, v. 153, n. 1-2, p. 843-851, 2008b.

RIBEIRO, R.; DE NARDI, I. R.; FERNANDES, B. S.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. BTEX removal in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor under denitrifying conditions. **Biodegradation**, v. 24, n. 2, p. 269-278, 2013.

RIDGWAY, K.; LALLJIE, S. P.; SMITH, R. M. Use of in-tube sorptive extraction techniques for determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in soft drinks. **Journal of Chromatography A**, v. 1174, n. 1-2, p. 20-26, 2007.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. 2ª ed. Campinas: Cárita Editora, 2009.

RUIZ-AGUILAR, G. M. L.; O'REILLY, K.; ALVAREZ, P. J. J. A Comparison of benzene and toluene plume lengths for sites contaminated with regular vs. ethanol-amended gasoline. **Ground Water Monitoring & Remediation**, v. 23, n. 1, p. 48-53, 2003.

SAFAROVA, V. I.; SAPELNIKOVA, S. V.; DJAZHENKO, E. V.; TEPLOVA, G. I.; SHAJDULINA, G. F.; KUDASHEVA, F. K. Gas chromatography–mass spectrometry with headspace for the analysis of volatile organic compounds in waste water. **Journal of Chromatography B**, v. 800, n. 1-2, p. 325-330, 2004.

SAKAI, N.; KURISU, F.; YAGI, O.; NAKAJIMA, F.; YAMAMOTO, K. Identification of putative benzene-degrading bacteria in methanogenic enrichment cultures. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 108, n. 6, p. 501-507, 2009.

SAKATA, S. K.; TANIGUCHI, S.; RODRIGUES, D. F.; URANO, M. E.; WANDERMÜREN, M. N.; PELLIZARI, V. H.; COMASSETO, J. V. Development of a static headspace gas chromatographic/mass spectrometric method to analyze the level of volatile contaminants biodegradation. **Journal of Chromatography A**, v. 1048, n. 1, p. 67-71, 2004.

SANTAELLA, S. T.; SILVA JÚNIOR, F. D. C. G. D.; GADELHA, D. D. A. C.; COSTA, K. O.; AGUIAR, R. D.; ARTHAUD, I. D. B.; LEITÃO, R. C. Tratamento de efluentes de refinaria de petróleo em reatores com *Aspergillus niger*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 139-148, 2009.

SCHINK, B. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 61, n. 2, p. 262-280, 1997.

SCHOCHER, R. J.; SEYFRIED, B.; VAZQUEZ, F.; ZEYER, J. Anaerobic degradation of toluene by pure cultures of denitrifying bacteria. **Archives of Microbiology**, v. 157, n. 1, p. 7-12, 1991.

SERRANO, A.; GALLEGO, M. Direct screening and confirmation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in water. **Journal of Chromatography A**, v. 1045, n. 1-2, p. 181-188, 2004.

SHAH, M. R.; NOBLE, R. D.; CLOUGH, D. E. Pervaporation–air stripping hybrid process for removal of VOCs from groundwater. **Journal of Membrane Science**, v. 241, n. 2, p. 257-263, 2004.

SHIM, H.; HWANG, B.; LEE, S.-S.; KONG, S.-H. Kinetics of BTEX biodegradation by a coculture of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* under hypoxic conditions. **Biodegradation**, v. 16, n. 4, p. 319-327, 2005.

SHIM, H.; SHIN, E.; YANG, S.-T. A continuous fibrous-bed bioreactor for BTEX biodegradation by a co-culture of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens*. **Advances in Environmental Research**, v. 7, n. 1, p. 203-216, 2002.

SHIM, H.; YANG, S.-T. Biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and o-xylene by a coculture of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* immobilized in a fibrous-bed bioreactor. **Journal of Biotechnology**, v. 67, n. 2-3, p. 99-112, 1999.

SHIM, H.; YANG, S.-T. BTEX removal from contaminated groundwater by a co-culture of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* immobilized in a continuous fibrous-bed bioreactor. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 77, n. 12, p. 1308-1315, 2002.

SIDDIQUE, T.; FEDORAK, P. M.; MACKINNON, M. D.; FOGHT, J. M. Metabolism of BTEX and naphtha compounds to methane in oil sands tailings. **Environmental Science and Technology**, v. 41, n. 7, p. 2350-2356, 2007.

SILVA, F. L. N.; SANTOS JR., J. R.; MOITA NETO, J. M.; SILVA, R. L. G. N. P.; FLUMIGNAN, D. L.; OLIVEIRA, J. E. Determinação de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos em gasolina comercializada nos postos do estado do Piauí. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 56-60, 2009.

SINGH, D.; FULEKAR, M. H. Benzene bioremediation using cow dung microflora in two phase partitioning bioreactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, n. 1-3, p. 336-343, 2010.

SLATER, G. F.; DEMPSTER, H. S.; LOLLAR, B. S.; AHAD, J. Headspace analysis: A new application for isotopic characterization of dissolved organic contaminants. **Environmental Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 190-194, 1999.

SPEECE, R. E. **Anaerobic biotechnology and odor/corrosion control for municipalities and industries**. Nashville: Archae Press, 2008.

SPRINGAEL, D.; TOP, E. M. Horizontal gene transfer and microbial adaptation to xenobiotics: new types of mobile genetic elements and lessons from ecological studies.

**Trends in Microbiology**, v. 12, n. 2, p. 53-58, 2004.

TIBURTIUS, E. R. L.; PERALTA-ZAMORA, P.; EMMEL, A. Treatment of gasoline-contaminated waters by advanced oxidation processes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 126, n. 1-3, p. 86-90, 2005.

TIBURTIUS, E. R. L.; PERALTA-ZAMORA, P.; LEAL, E. S. Contaminação de águas por BTXs e processos utilizados na remediação de sítios contaminados. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 441-446, 2004.

TRIGUEROS, D. E. G. **Avaliação da cinética de biodegradação dos compostos tóxicos: benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno (BTEX) e fenol**. 2008. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo.

TRIGUEROS, D. E. G.; MÓDENES, A. N.; KROUMOV, A. D.; ESPINOZA-QUIÑONES, F. R. Modeling of biodegradation process of BTEX compounds: Kinetic parameters estimation by using Particle Swarm Global Optimizer. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 8, p. 1355-1361, 2010.

ULRICH, A. C.; EDWARDS, E. A. Physiological and molecular characterization of anaerobic benzene-degrading mixed cultures. **Environmental Microbiology**, v. 5, n. 2, p. 92-102, 2003.

ULRICH, A. C.; TAPPENDEN, K.; ARMSTRONG, J.; BIGGAR, K. W. Effect of cold temperature on the rate of natural attenuation of benzene, toluene, ethylbenzene, and the three isomers of xylene (BTEX). **Canadian Geotechnical Journal**, v. 47, n. 5, p. 516-527, 2010.

USEPA. **A citizen's guide to air stripping**. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, 2012a.

USEPA. **Drinking water standards and health advisories**. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, 2012b.

VAN DER ZAAAN, B. M.; SAIA, F. T.; STAMS, A. J. M.; PLUGGE, C. M.; DE VOS, W. M.; SMIDT, H.; LANGENHOFF, A. A. M.; GERRITSE, J. Anaerobic benzene degradation under denitrifying conditions: *Peptococcaceae* as dominant benzene degraders and evidence for a syntrophic process. **Environmental Microbiology**, v. 14, n. 5, p. 1171-1181, 2012.

VEERESH, G. S.; KUMAR, P.; MEHROTRA, I. Treatment of phenol and cresols in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) process: a review. **Water Research**, v. 39, n. 1, p. 154-170, 2005.

VIDAL, C. B. **Remoção de BTEX em solução aquosa por adsorção usando zeólita sintética modificada**. 2011. Dissertação de mestrado. Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

VIDAL, C. B.; RAULINO, G. S. C.; BARROS, A. L.; LIMA, A. C. A.; RIBEIRO, J. P.; PIRES, M. J. R.; NASCIMENTO, R. F. BTEX removal from aqueous solutions by HDTMA-modified Y zeolite. **Journal of Environmental Management**, v. 112, p. 178-185, 2012.

VIDALI, M. Bioremediation. An overview. **Pure and Applied Chemistry**, v. 73, n. 7, p. 1163-1172, 2001.

VILIESID, F.; LILLY, M. D. Influence of dissolved oxygen tension on the synthesis of catechol 1,2-dioxygenase by *Pseudomonas putida*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 14, n. 7, p. 561-565, 1992.

VOGT, C.; KLEINSTEUBER, S.; RICHNOW, H.-H. Anaerobic benzene degradation by bacteria. **Microbial Biotechnology**, v. 4, n. 6, p. 710-724, 2011.

WEELINK, S. A. B.; VAN EEKERT, M. H. A.; STAMS, A. J. M. Degradation of BTEX by anaerobic bacteria: physiology and application. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 9, n. 4, p. 359-385, 2010.

WHO. **Guidelines for drinking-water quality**. 4th. Geneva: World Health Organization, 2011.

WIDDEL, F.; RABUS, R. Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 12, n. 3, p. 259-276, 2001.

YANG, H.; JIANG, Z.; SHI, S. Aromatic compounds biodegradation under anaerobic conditions and their QSBR models. **Science of the Total Environment**, v. 358, n. 1-3, p. 265-276, 2006.

YERUSHALMI, L.; LASCOURREGES, J.-F.; GUIOT, S. R. Kinetics of benzene biotransformation under microaerophilic and oxygen-limited conditions. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 79, n. 3, p. 347-355, 2002.

YERUSHALMI, L.; LASCOURREGES, J.-F.; RHOFIR, C.; GUIOT, S. R. Detection of intermediate metabolites of benzene biodegradation under microaerophilic conditions. **Biodegradation**, v. 12, n. 6, p. 379-391, 2001.

ZEIN, M. M.; PINTO, P. X.; GARCIA-BLANCO, S.; SUIDAN, M. T.; VENOSA, A. D. Treatment of groundwater contaminated with PAHs, gasoline hydrocarbons, and methyl *tert*-butyl ether in a laboratory biomass-retaining bioreactor. **Biodegradation**, v. 17, n. 1, p. 57-69, 2006.

ZEYER, J.; KUHN, E. P.; SCHWARZENBACH, R. P. Rapid microbial mineralization of toluene and 1,3-dimethylbenzene in the absence of molecular oxygen. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 944-947, 1986.

ZHOU, N.-Y.; JENKINS, A.; CHION, C. K. N. C. K.; LEAK, D. J. The alkene monooxygenase from *Xanthobacter* Strain Py2 is closely related to aromatic monooxygenases and catalyzes aromatic monohydroxylation of benzene, toluene, and phenol. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 4, p. 1589-1595, 1999.

ZWOLINSKI, M. D.; HARRIS, R. F.; HICKEY, W. J. Microbial consortia involved in the anaerobic degradation of hydrocarbons. **Biodegradation**, v. 11, n. 2-3, p. 141-158, 2000.





## APÊNDICE

### APÊNDICE A – Figuras de interesse

Figura A.1 – Configuração do sistema experimental utilizado na remoção de BTEX sob condições anaeróbias e microaeróbias (reatores anaeróbios de manta de lodo e fluxo ascendente).

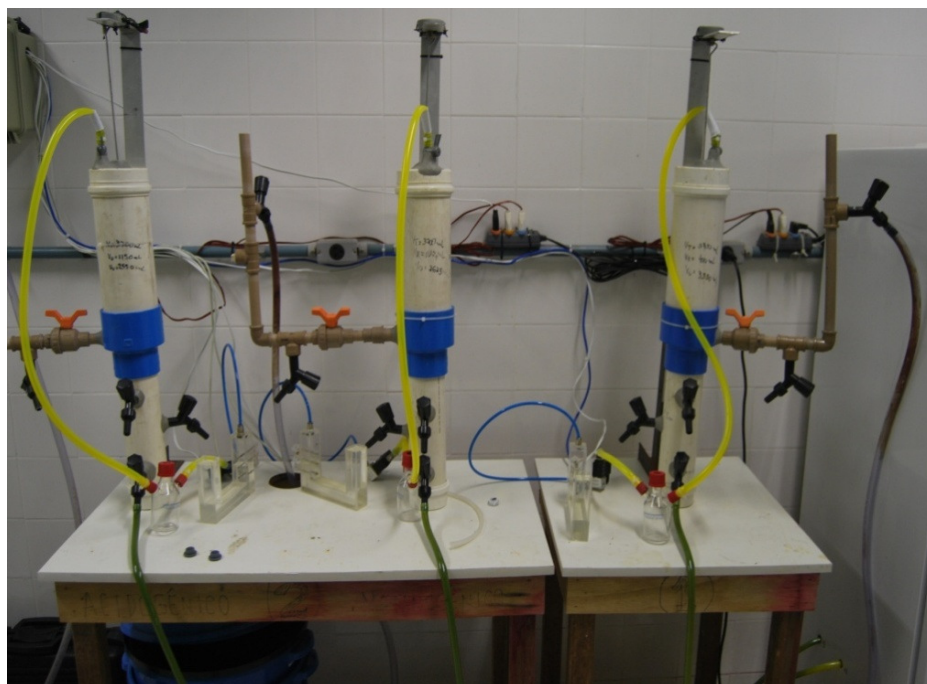


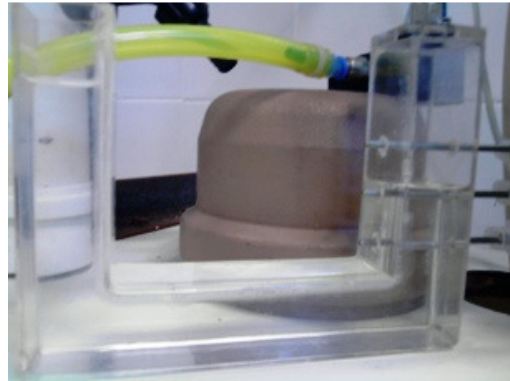
Figura A.2 – Recipientes de PVC para armazenamento de afluente (~5 °C) provido de atmosfera de N<sub>2</sub> a partir de bolsas de Tedlar® para amostragem de gás.



Figura A.3 – Sistema de medição de biogás: quadro elétrico com *display* para contagem de pulsos (a) e recipiente para medição do volume de biogás produzido (método do deslocamento de líquido) (b).



(a)



(b)

Figura A.4 – Procedimento de diluição do biogás em bulbo de vidro para quantificação de  $\text{NH}_3$  e  $\text{H}_2\text{S}$ .

