



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL – UFFS
CAMPUS ERECHIM
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA

ADRIANA PAULA FRANCIESKI

**BIODEGRADAÇÃO DE FENOL E P-NITROFENOL EM REATOR BATELADA
UTILIZANDO CASCA DE OVO COMO SUPORTE PARA CRESCIMENTO DE
BIOFILME**

ERECHIM – RS

2018

ADRIANA PAULA FRANCIESKI

**BIODEGRADAÇÃO DE FENOL E P-NITROFENOL EM REATOR BATELADA
UTILIZANDO CASCA DE OVO COMO SUPORTE PARA CRESCIMENTO DE
BIOFILME**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS - Campus Erechim, como requisito para a obtenção do título de bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária.

Orientadora: Prof.^a Dra. Adriana Dervanoski

Coorientadora: Prof.^a Dra. Gean Delise Leal Pasquali Vargas

ERECHIM – RS

2018

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Francieski, Adriana Paula

Biodegradação de Fenol e P-nitrofenol em Reator Batelada Utilizando Casca de Ovo como Suporte para Crescimento de Biofilme / Adriana Paula Francieski. -- 2018.

74 f.

Orientador: Adriana Dervanoski.

Co-orientador: Gean Delise Leal Pasquali Vargas.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Erechim, RS, 2018.

1. Biorreator em batelada. 2. Biodegradação. 3. Biofilme. 4. Casca de ovo. 5. Biomassa. I. Dervanoski, Adriana, orient. II. Vargas, Gean Delise Leal Pasquali, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

ADRIANA PAULA FRANCIESKI

**BIODEGRADAÇÃO DE FENOL E P-NITROFENOL EM REATOR BATELADA
UTILIZANDO CASCA DE OVO COMO SUPORTE PARA CRESCIMENTO DE
BIOFILME**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS - Campus Erechim, como requisito para a obtenção do título de bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária.

Orientadora: Prof.^a Dra. Adriana Dervanoski

Coorientadora: Prof.^a Dra. Gean Delise Leal Pasquali Vargas

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado em ____/____/____

Prof.^a Dra. Adriana Dervanoski

UFFS – Erechim

Prof.^a Dra. Gean Delise Leal Pasquali Vargas

UFFS - Erechim

Prof. Dr. Marília Teresinha Hartmann

UFFS – Erechim

Prof.^a Dra. Clarissa Dalla Rosa

UFFS – Erechim

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado a vida e as oportunidades no decorrer dela, encorajando-me a seguir meu caminho com fé, persistência e humildade.

A minha família, em especial aos meus pais, Claudio e Verônica, por serem a base de toda a minha vida e por me incentivarem a seguir o caminho do conhecimento e estudo.

Ao meu noivo, Marcos pelo amor, carinho, paciência, compreensão, ajuda e apoio nos momentos difíceis e por estar sempre presente e me dar forças para a realização deste trabalho.

Às minhas orientadoras, Professora Adriana Dervanoski pelo entusiasmo transmitido no decorrer desses anos de graduação e pela dedicação em me apontar as soluções das dúvidas mesmo que de longe. À Professora Gean Delise Leal Pasquali Vargas, pelos incansáveis esclarecimentos de dúvidas, sugestões de melhora, por não medir esforços para que tudo ocorresse da melhor maneira, sempre com muita paciência e com muito carinho e objetividade. Gratidão por ter orientadoras como vocês.

À professora das disciplinas TCC I e TCC II Marília Teresinha Hartmann pelos ensinamentos, disponibilidade e sugestões de melhora realizadas durante as aulas.

À professora Clarissa Dalla Rosa pela disponibilidade de participar da banca de avaliação desta pesquisa.

Às minhas colegas do laboratório Josiane Bambi e Tainá Cristini, que sempre estavam por perto me auxiliando, muitas vezes, deixando suas coisas de lado para me ajudar, por todo apoio, companheirismo e parceria durante a realização dos experimentos e das análises em laboratório.

Aos amigos que conquistei no decorrer da graduação Alexandre, Aline, Dirce, Leonardo, Maria Antonieta, Natália e Vanessa, pelas conversas e pela amizade. Meu agradecimento especial as minhas amigas Saraiane e Vrandrieli, por todo o apoio durante a nossa graduação, pela parceria de sempre, por todos os conselhos, pelas inúmeras vezes que pedi ajuda e vocês estavam lá sempre dispostas a me ajudar, a nos ajudarmos, enfim, gratidão pela amizade que construímos nessa caminhada.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma estiveram do meu lado neste período.

RESUMO

Os efluentes industriais que são despejados de maneira incorreta no meio ambiente de grandes centros urbanos podem propiciar a contaminação do solo e dos recursos hídricos, comprometendo a qualidade de vida da população. Dentre os diferentes tipos de contaminantes gerados nas indústrias, tem se destacado os compostos orgânicos com característica fenólica. Estes contaminantes são facilmente encontrados em indústrias como a de papel e celulose, petroquímica, pesticidas, tintas e resinas entre outras. Nos locais onde a geração de efluentes não é controlada a presença de poluentes orgânicos como o fenol e p-nitrofenol pode resultar em impactos relevantes no meio ambiente devido sua alta toxicidade, prejudicando a fauna, flora e causando efeitos deletérios a saúde humana. Sob esta perspectiva o desenvolvimento e uso de tecnologias que propiciem o tratamento adequado dos efluentes é de extrema relevância, sempre com o intuito de reduzir e controlar a poluição. Entre as diversas tecnologias empregadas atualmente a biodegradação tem se mostrado como uma opção a fim de minimizar a contaminação de águas e áreas poluídas por efluentes tóxicos. Sendo assim, o presente trabalho objetivou avaliar a eficiência de remoção do fenol e p-nitrofenol de águas residuais sintéticas, utilizando a biodegradação em reator batelada, tendo como material de imobilização para a formação do biofilme a casca de ovo. As concentrações de fenol e de p-nitrofenol avaliadas foram: 5, 10 e 15 mg L⁻¹ e pH inicial na faixa de 6,84 - 6,97 para o fenol e entre 7,23 – 7,63 para o p-nitrofenol. Os resultados obtidos demonstram que o biorreator contendo fenol apresentou melhor desempenho de remoção, possivelmente devido a maior quantidade de biomassa aderida ao suporte (23,24 mg g suporte⁻¹), chegando a 100 % de biodegradação do fenol, para a maior concentração analisada em 420 minutos de reação, quando comparado ao biorreator contendo p-nitrofenol que apresentou a menor quantidade de biomassa aderida ao suporte (19,03 mg g suporte⁻¹), chegando a remoção máxima de biodegradação em aproximadamente 660 minutos. Com relação aos parâmetros cinéticos, o valor de K_A do composto fenol indicou maior afinidade pelo efluente de menor concentração, no entanto, para o composto p-nitrofenol, o valor de K_A indicou maior afinidade pelo efluente mais concentrado. No que tange a variável a_vR_{mA}, para o composto fenol, ela foi maior para o composto mais concentrado, ou seja, para o composto mais concentrado o consumo de substrato foi mais rápido, no entanto para o composto p-nitrofenol, a variável foi maior para o composto menos concentrado, indicando que o consumo de substrato foi mais rápido pelo composto de menor concentração. Avaliando-se os resultados obtidos, pode-se concluir que há eficiência no uso de biofilmes suportados em casca de ovo para remoção de contaminantes tóxicos como o fenol e o p-nitrofenol, em sistema em batelada de agitação mecânica, observou-se também que a quantidade de biofilme suportado interfere na remoção do contaminante, e conseqüentemente do material contendo biofilme utilizado na remoção dos compostos fenólicos. A tecnologia de biodegradação pode ser apontada com boa eficiência para o tratamento de efluentes contendo compostos fenólicos.

Palavras-chave: biorreator em batelada, biodegradação, biofilme, casca de ovo, biomassa.

ABSTRACT

Industrial effluents that are dumped incorrectly in the environment in large urban centers can cause contamination of soil and water resources, compromising the quality of life of the population. Among the different types of contaminants created in the industries, organic compounds with a phenolic characteristic have been highlighted, these contaminants are easily found in industries such as cellulose paper, petrochemicals, pesticides, paints and resins, and others. In places where the generation of effluents is not controlled the presence of organic pollutants such as phenol and p-nitrophenol may result in significant impacts on the environment due to their high toxicity, damaging the fauna, flora and causing deleterious effects on human health. From this perspective, the development and use of technologies that provide adequate treatment of effluents is extremely relevant, always with the aim of reducing and controlling pollution. Among the various technologies currently used, biodegradation has been shown as an option in order to minimize the contamination of waters and areas polluted by toxic effluents. therefore, the present work aimed to evaluate the efficiency of the removal of phenol and p-nitrophenol from synthetic wastewater, using batch reactor biodegradation, having as immobilization material for the formation of the biofilm the egg shell. The phenol and p-nitrophenol concentrations evaluated were: 5, 10 and 15 mg L⁻¹ and initial pH in the range of 6.84 - 6.97 for phenol and between 7.23 - 7.63 for p- nitrophenol. The results show that the phenol-containing bioreactor presented better performance in the removal of phenol, possibly due to the higher amount of biomass adhered to the support (23.24 mg g⁻¹ support), reaching 100% phenol biodegradation, concentration analyzed in 420 minutes of reaction, when compared to the bioreactor containing p-nitrophenol that presented (19.03 mg g support⁻¹) the maximum removal in the three concentrations was obtained in approximately 660 minutes. Regarding the kinetic parameters, the K_A value of the phenol compound indicated higher affinity for the effluent of lower concentration, however, for the compound p-nitrophenol, the K_A value indicated higher affinity for the more concentrated effluent. As regards the variable a_vR_{mA}, for the phenol compound, it was higher for the more concentrated compound, that is, for the more concentrated compound the consumption of substrate was faster, however for the compound p-nitrophenol, the variable was higher for the less concentrated compound, indicating that substrate consumption was faster by the compound of lower concentration. Evaluating the results, it can be concluded that there is efficiency in the use of biofilms supported in eggshell for the removal of toxic contaminants such as phenol and p-nitrophenol, in a batch system of mechanical agitation, it was also observed that the amount of biofilm supported interferes with the removal of the contaminant, and consequently of the biofilm-containing material used in the removal of the phenolic compounds. The biodegradation technology can be pointed out with good efficiency for the treatment of effluents containing phenolic compounds.

Key words: bioreactor in batch, biodegradation, biofilm, egg shell, biomass.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Estrutura e peso molecular dos compostos, fenol e p-nitrofenol..... | 17 |
| Figura 2: Esquema da degradação de uma substância orgânica por um microrganismo..... | 19 |
| Figura 3: Etapas envolvidas na formação de biofilmes | 20 |
| Figura 4: Biorreatores em batelada na mesa agitadora, após o período de adaptação | 27 |
| Figura 5: Cinética de biodegradação do fenol em diferentes concentrações iniciais..... | 33 |
| Figura 6: Valores das concentrações de pH na biodegradação em batelada do fenol, para diferentes concentrações iniciais. | 34 |
| Figura 7: Valores das concentrações de OD na biodegradação em batelada do fenol, para diferentes concentrações iniciais. | 34 |
| Figura 8: Valores das concentrações de Condutividade elétrica na biodegradação em batelada do fenol, para diferentes concentrações iniciais..... | 35 |
| Figura 9: Cinética de biodegradação do p-nitrofenol em diferentes concentrações iniciais..... | 37 |
| Figura 10: Valores das concentrações de pH na biodegradação em batelada do p-nitrofenol, para diferentes concentrações iniciais..... | 38 |
| Figura 11: Valores das concentrações de OD na biodegradação em batelada do p-nitrofenol, para diferentes concentrações iniciais..... | 39 |
| Figura 12: Valores das concentrações de Condutividade elétrica na biodegradação em batelada do p-nitrofenol, para diferentes concentrações iniciais..... | 40 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Configurações das fontes de carbono durante o período de adaptação..... | 27 |
| Tabela 2: Composição sistema presente nos biorreatores..... | 30 |
| Tabela 3: Dados físico-químicos do inóculo obtido na estação de tratamento de efluentes (ETE) da indústria de papel e celulose. | 31 |
| Tabela 4: Resultados obtidos das quantidades de proteína, em mg L^{-1} , para o biorreator contendo fenol (BCF) e para o biorreator contendo p-nitrofenol (BCP)..... | 32 |
| Tabela 5: Valores obtidos na cinética de biodegradação do fenol em diferentes concentrações iniciais | 36 |
| Tabela 6: Valores obtidos na cinética de biodegradação do p-nitrofenol em diferentes concentrações iniciais | 40 |
| Tabela 7: Valores da velocidade de degradação, concentração celular e constante de meia saturação experimentais dos biorreatores contendo fenol, para diferentes concentrações. | 41 |
| Tabela 8: Valores da velocidade de degradação, concentração celular e constante de meia saturação experimentais dos biorreatores contendo p-nitrofenol, para diferentes concentrações. | 41 |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|-------------------------|--|
| $a_v R_{mA}$ | Velocidade de degradação |
| BCF | Biorreator contendo fenol |
| BCP | Biorreator contendo p-nitrofenol |
| °C | Graus centígrados (Celsius) |
| C_A | Concentração da espécie química A [mg L^{-1}] |
| Ce | Condutividade elétrica [$\mu\text{S cm}^{-1}$] |
| DQO | Demanda química de oxigênio [$\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$] |
| K_A | Constante de meia saturação de Michaelis-Menten [mg L^{-1}] |
| $m_{\text{partículas}}$ | Massa de casca de ovo contida no suporte |
| mg | Unidade de massa [$\text{mg} = 10^{-3} \text{ g}$] |
| mL | Unidade de volume [$\text{mL} = 10^{-3} \text{ L}$] |
| OD | Oxigênio dissolvido [$\text{mg de O}_2 \text{ L}^{-1}$] |
| P | Concentração de produto [mg L^{-1}] |
| pK_a | Potencial de Acidez (“p” significa o logaritmo negativo) |
| r | Velocidade de biodegradação [$\text{mg L}^{-1} \text{ s}^{-1}$] |
| R | Velocidade de consumo do substrato [$\text{mg L}^{-1} \text{ s}^{-1}$] |
| R^2 | Coefficiente de correlação [adim.] |
| r_A | Velocidade de reação de biodegradação da espécie química A [$\text{mg L}^{-1} \text{ s}^{-1}$] |
| R_{mA} | Velocidade máxima de reação da espécie química A [$\text{mg L}^{-1} \text{ s}^{-1}$] |
| S | Concentração de substrato [mg L^{-1}] |
| SSF | Sólidos Suspensos Fixos |
| SSV | Sólidos Suspensos Voláteis |
| SST | Sólidos Suspensos Totais |
| T | Tempo [s] |
| $V_{\text{partículas}}$ | Volume das partículas da casca de ovo no reator |
| V_{reator} | Volume do reator [L] |
| X | Concentração celular (biomassa) [mg L^{-1}] |

| | |
|-------|--|
| X_0 | Concentração celular no instante inicial [mg L ⁻¹] |
| Y | Rendimento em massa celular [g g ⁻¹] |

Letras Gregas

| | |
|--------------------------------|------------------------------------|
| $\varepsilon_{\text{suporte}}$ | Porosidade da fase da casca de ovo |
| ρ_{suporte} | Densidade aparente do suporte |
| λ | Comprimento de onda [nm] |
| μ | Micro escala [10 ⁻⁶] |
| μS | Medida de condutância elétrica |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 15 |
| 2. OBJETIVOS | 23 |
| 2.1. OBJETIVO GERAL | 23 |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 23 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 24 |
| 3.1. MATERIAIS | 24 |
| 3.1.1 Águas residuais sintéticas | 24 |
| 3.1.2 Inóculo | 24 |
| 3.1.3 Suporte para fixação do biofilme..... | 24 |
| 3.1.4 Solução mineral utilizada para o crescimento do biofilme..... | 25 |
| 3.1.5 Biorreatores | 25 |
| 3.1.6 Imobilização e adaptação da biomassa aeróbia..... | 26 |
| 3.2. PROCEDIMENTO E MÉTODOS ANALÍTICOS | 28 |
| 3.2.1 Sólidos suspensos totais, suspensos fixos totais e suspensos voláteis..... | 28 |
| 3.2.2 Concentração de oxigênio (OD)..... | 28 |
| 3.2.3 pH..... | 28 |
| 3.2.4 Condutividade elétrica | 28 |
| 3.2.5 Análise de DQO | 29 |
| 3.2.6 Análise dos compostos fenólicos..... | 29 |
| 3.2.6.1 Análise de fenol pelo método fotométrico direto..... | 29 |
| 3.2.6.2 Análise de p-nitrofenol pelo método fotométrico direto..... | 29 |
| 3.2.7 Análise do biofilme suportado - quantificação da biomassa | 29 |
| 3.2.8 Cinética de biodegradação | 30 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 31 |
| 4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO INÓCULO..... | 31 |
| 4.2 DESENVOLVIMENTO DA BIOMASSA ADERIDA | 31 |
| 4.3 CURVAS DE BIODEGRADAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS EM BATELADA | 32 |
| 4.3.1 Biorreator contendo fenol..... | 32 |
| 4.3.2 Biorreator contendo p-nitrofenol..... | 366 |
| 4.3.3 Desempenho dos parâmetros cinéticos | 400 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 5 | CONCLUSÕES | 45 |
| 6 | RECOMENDAÇÕES | 47 |
| | REFERÊNCIAS | 48 |
| | APENDICE A | 53 |
| | Gráfico de calibração para análise de Fenol | 53 |
| | APÊNDICE B | 54 |
| | Gráfico de calibração para análise de p-nitrofenol | 54 |
| | APÊNDICE C | 55 |
| | Demanda Química de Oxigênio – DQO | 55 |
| | APÊNDICE D | 56 |
| | DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DA PROTEÍNA – BIOMASSA | 57 |
| | D.1 Dosagem de proteínas – Método de Lowry | 57 |
| | D.2 Procedimento experimental | 57 |
| | D.2.1 Em Suspensão | 7 |
| | D.2.2 Curva Padrão | 57 |
| | D.2.3 Dosagem | 58 |
| | D.2.4 No suporte | 58 |
| | D.3 Curva de calibração da alumina bovina | 58 |
| | D.4 Resultados da análise de proteínas | 59 |
| | D.5 Cálculos para obtenção dos Sólidos em Suspensão Total, Fixos e Voláteis | 60 |
| | D.5.1 Preparação do cadinho | 60 |
| | D.5.2 Filtração e secagem da amostra | 60 |
| | D.5.3 Calcinação da amostra | 61 |
| | D.5.4 Cálculos | 61 |
| | D.5.4.1 Análise dos sólidos do biorreator contendo fenol (BCF) | 61 |
| | D.5.4.1 Análise dos sólidos do biorreator contendo p-nitrofenol (BCP) | 62 |
| | APÊNDICE E | 64 |
| | PARÂMETROS CINÉTICOS | 64 |
| | E.1 Linearização da Equação de Michaelis-Menten | 64 |
| | E.2 Cinéticas de biodegradação | 65 |
| | E.2.1 Cinética para os biorreatores contendo fenol (BCF) | 65 |
| | E.2.2 Cinética para os biorreatores contendo p-nitrofenol (BCP) | 67 |
| | APÊNDICE F | 70 |
| | CÁLCULOS DA VELOCIDADE DE DEGRADAÇÃO | 70 |

| | |
|---|-----------|
| F.1. Cálculo da velocidade de degradação dos biorreatores contendo compostos fenólicos | |
| | 70 |

1. INTRODUÇÃO

A água é o constituinte mais abundante da matéria viva e também é considerada como um solvente universal capaz de solubilizar a maioria das substâncias, sendo de fundamental importância para a sobrevivência das espécies (DEZOTTI, 2008). A disposição da água tem gerado preocupações tanto no âmbito social quanto no científico, devido à desenfreada degradação desse recurso hídrico nas últimas décadas (HELLER e DE PÁDUA, 2010). O aumento da concentração urbana em função do desenvolvimento econômico tem resultado numa maior geração de efluentes líquidos e de resíduos sólidos (BELTRAME *et al.*, 2016).

Os efluentes líquidos na grande maioria são gerados pelo setor industrial, que tem se tornado um grande responsável pela poluição dos corpos hídricos receptores (DEZOTTI, 2008). Sendo assim, o lançamento de efluentes tem gerado muita preocupação no âmbito social e científico, tendo em vista a degradação dos recursos hídricos nas últimas décadas, como impacto deste aumento tem-se diversos problemas ambientais dos quais podem ser destacamos os impactos sobre a fauna, a flora e sobre a própria população. Dentre os diversos contaminantes presentes em efluentes industriais e que podem chegar aos corpos d'água, destacam-se os compostos fenólicos, os quais têm sido utilizados em grande escala e têm tido efeitos desastrosos na biodiversidade (RIPA *et al.*, 2017).

Compostos fenólicos e seus derivados são facilmente encontrados nos corpos hídricos e muitas vezes devido às descargas industriais, tais como, indústrias de papel e celulose, indústrias siderúrgicas, de agroquímicos, de plásticos, resinas, tintas e vernizes, além de outras que utilizam fenóis como produtos intermediários (AGARRY e SOLOMON, 2012). Efluentes que contêm fenol e p-nitrofenol apresentam grandes problemas ambientais devido à alta toxicidade e mesmo em baixas concentrações apresentam textura e odor característicos. Para o ser humano causa efeitos crônicos como, vômito, dificuldade de respirar, anorexia, dores de cabeça, dentre outros distúrbios físicos e mentais (BRANCO, 2013; BARBOSA *et al.*, 2014).

A biodegradação de compostos fenólicos tem sido estudada por diversos pesquisadores (BANERJEE e GHOSHAL, 2010; EL-NAAS *et al.*, 2010; PRADEEP *et al.*, 2015; SIVASUBRAMANIAN e NAMASIVAYAM, 2015; FELSHIA *et al.*, 2017; RIBEIRO, 2018) com o objetivo de reconhecer as interações presentes na degradação de misturas de substratos. Os efeitos de interação, sendo eles sinérgicos e/ou antagônicos, durante a biodegradação de compostos

fenólicos podem ser conferidos a toxicidade e formação de intermediários tóxicos por enzimas não específicas (WANG e LOH, 2000), e à inibição competitiva (BIELEFELDT e STENSEL, 1999).

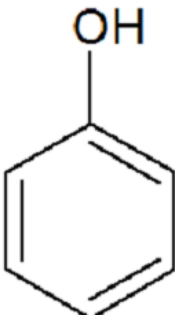
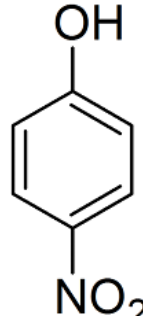
O fenol é o membro mais simples de uma classe de compostos orgânicos conhecidos coletivamente como fenóis. Os membros desta classe contêm um ou mais grupos hidroxilas ligados a um anel aromático. A presença da hidroxila fenólica provoca deslocalização do par de elétrons de oxigênio no anel benzênico devido à eletronegatividade. Este fenômeno conhecido como "ressonância" é responsável pela acidez do fenol e, que o torna diferente dos álcoois. O fenol possui fórmula molecular C_6H_5OH , massa molecular de $94,1 \text{ g mol}^{-1}$, densidade específica de $1,071 \text{ g mL}^{-1}$ e pressão de vapor de $0,35 \text{ mmHg}$. Na forma pura possui ponto de fusão de 43°C e ponto de ebulição de 182°C . Solubilidade em água de $6,7 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ a 16°C . O fenol é muito solúvel na maioria dos solventes orgânicos: éter etílico, álcool metílico, álcool etílico, tetracloreto de carbono, glicerol, dióxido de enxofre líquido e benzeno. É ligeiramente ácido com pK_a de 9,9 em soluções aquosas a 25°C ($K_a = 1,3 \times 10^{-10}$) (USEPA, 1986).

Entre uma ampla variedade de compostos fenólicos, encontra-se o p-nitrofenol (PNF) que é um importante membro deste grupo (VÉLEZ-LEE *et al.*, 2015). Também chamado de p-nitrofenol, paranitrofenol ou 4-hidroxinitrobenzeno. Possui fórmula molecular $C_6H_5NO_3$, peso molecular $139,11 \text{ g mol}^{-1}$, densidade relativa do líquido (ou sólido) $1,48 \text{ g mL}^{-1}$, ponto de fusão 113 a 114°C , ponto de ebulição de 279°C e solubilidade em água de 16 g L^{-1} a 25°C . A presença de um receptor para prótons (o grupo nitro) e um doador para prótons (o grupo OH) na mesma molécula podendo afetar também a estrutura da molécula como o arranjo molecular no estado sólido.

A agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) requer um limite menor que 1 mg L^{-1} para o fenol (BUSCA *et al.*, 2008; LUENLOI *et al.*, 2011) e não tem estabelecido uma concentração de referência para o p-nitrofenol (USEPA, 2000; LIU *et al.*, 2007). A ação tóxica do p-nitrofenol é parecida com a ação tóxica da anilina, que converte a hemoglobina para metemoglobina, na qual é causada pela oxidação do ferro II para ferro III, resultando em uma não transposição do oxigênio no corpo pela hemoglobina. Esta condição é caracterizada pela cianose e cor marrom-escuro do sangue. Concentrações fenólicas entre 5 e 25 mg L^{-1} podem apresentar efeitos letais em espécies marinhas (MOLLAEI *et al.*, 2010). Dentre os efeitos adversos sobre os organismos aquáticos destacam-se a inibição ao crescimento e na reprodução, diminuição dos reflexos, alterações do metabolismo intermediário, anomalias histopatológicas, dano tecidual e estresse oxidativo (DUAN, 2017).

Segundo a Resolução CONAMA 430/2011, o nível máximo permitido de fenóis totais em águas residuárias é de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, já em águas utilizadas para abastecimento humano após tratadas, os níveis de referência utilizados são de $0,003 \text{ mg L}^{-1}$ para águas doces classe 1 e $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ para águas doces classe 3, de acordo com a Resolução CONAMA 357/2005. A Figura 1 apresenta as características estruturais e químicas dos contaminantes fenol e p-nitrofenol.

Figura 1: Estrutura e peso molecular dos compostos, fenol e p-nitrofenol.

| Substrato | Estrutura Molecular | Peso Molecular (g mol^{-1}) |
|--------------|---|--|
| Fenol |  | 94,1 |
| P-nitrofenol |  | 139,11 |

Fonte: AUTORA, 2018.

Os compostos orgânicos fenol e p-nitrofenol são poluentes representativos de efluentes da indústria química, sendo hidrocarbonetos aromáticos, de elevada massa molecular e cadeia de baixa densidade, são solúveis em água e apresentam um potencial de poluição maior pelo fato de serem compostos hidrossolúveis do efluente (GRIEM *et al.*, 2009). O fenol e o p-nitrofenol representam um sério risco ao ser humano e ao meio ambiente, devido ao fato de serem considerados poluentes de prioridade e por serem tóxicos (USEPA, 2002; HUSSAIN e DUBEY, 2014).

Devido a necessidade cada vez maior de preservação dos recursos hídricos, é crescente a procura por novas tecnologias que busquem reduzir os impactos causados pela presença de compostos tóxicos no meio ambiente (LUZ *et al.*, 2013). A necessidade de processos mais eficientes na remoção dos contaminantes é uma das buscas das indústrias que necessitam de

unidades mais compactadas que operem com maior flexibilidade e bom desempenho na remoção de compostos tóxicos (ULSON DE SOUZA *et al.*, 2008).

Dentre as técnicas mais empregadas para a remoção de compostos fenólicos, podemos destacar, a biodegradação (PASSOS *et al.*, 2009; RIBEIRO, 2018), a adsorção (RIPA *et al.*, 2017), a oxidação e coagulação química (ORTEGA *et al.*, 2016), a floculação iônica (CAVALCANTE, 2016), entre outras. Apesar da capacidade destes processos em remover compostos fenólicos, alguns são tecnicamente menos atrativos pelo fator econômico e por razões de segurança. Dentre estas tecnologias, a biodegradação vêm despontando como técnica bastante eficaz, podendo ser utilizada como complemento às tecnologias convencionais, permitindo o reuso da água (FARIA *et al.*, 2009; ULSON DE SOUZA *et al.*, 2009).

Uma alternativa eficaz e potencialmente rentável para o tratamento de compostos tóxicos é o tratamento biológico (BERTIN *et al.*, 2007; MASSALHA *et al.*, 2007). O tratamento biológico tem como vantagem a destruição permanente dos resíduos e eliminação dos riscos de futuras contaminações através da mineralização (LITTLEJOHNS e DAUGULIS, 2008). Apesar do aumento do nível de aceitação por parte da opinião pública, o tratamento biológico possui algumas limitações, devido à toxicidade de alguns compostos, ou à formação de produtos parcialmente oxidados que podem vir a ser mais tóxicos e mutagênicos do que o composto de origem, o que acaba por tornar mais lento o processo de biodegradação, principalmente para altas concentrações do contaminante (PRPICH e DAUGULIS, 2005).

A biodegradação é uma opção de minimizar a contaminação de áreas poluídas por efluentes tóxicos. Esta técnica não necessita da adição de produtos químicos, e é definida pela degradação de compostos orgânicos através do metabolismo de organismos vivos. Este processo biológico permite o tratamento de uma larga variedade de efluentes industriais (PRPICH e DAUGULIS, 2005; MASSALHA *et al.*, 2007).

A biodegradação de um substrato orgânico pode ser obtida através de micro-organismos que crescem em função do substrato específico como única fonte de energia ou crescem utilizando outro nutriente orgânico como fonte de carbono e energia (MELLO, 2007). A Figura 2 apresenta de maneira simplificada um esquema da degradação aeróbia de uma substância orgânica por micro-organismos.

Figura 2: Esquema da degradação de uma substância orgânica por um micro-organismo.



Fonte: Adaptado de EPA, 1996.

Segundo Petrozo *et al.* (2002) a velocidade de biodegradação dos hidrocarbonetos depende de diversos fatores que afetam a velocidade de biodegradação dos quais pode destacar: o pH ideal para a biodegradação que deve ser próximo do neutro (6 a 8); a temperatura também influencia a biodegradação pelo efeito na natureza física e química dos componentes presentes nos efluentes, a temperatura ótima de biodegradação varia de 18°C a 30°C; a concentração de nutrientes também afeta a velocidade, sendo que alguns dos macro e micronutrientes são essenciais para manter o crescimento microbiano dos quais destaca-se o nitrogênio, fósforo, potássio, sódio, enxofre, cálcio, magnésio, ferro, manganês, zinco e cobre; a velocidade de biodegradação também é afetada pelo volume de produto liberado para o meio ambiente; o teor de oxigênio, dois dos ciclos biogeoquímicos desempenham importante papel na remoção de matéria orgânica: o aeróbio, no qual os micro-organismos utilizam oxigênio como aceptor final de elétrons para realizar a decomposição da matéria orgânica e o anaeróbio, no qual o oxigênio não está presente.

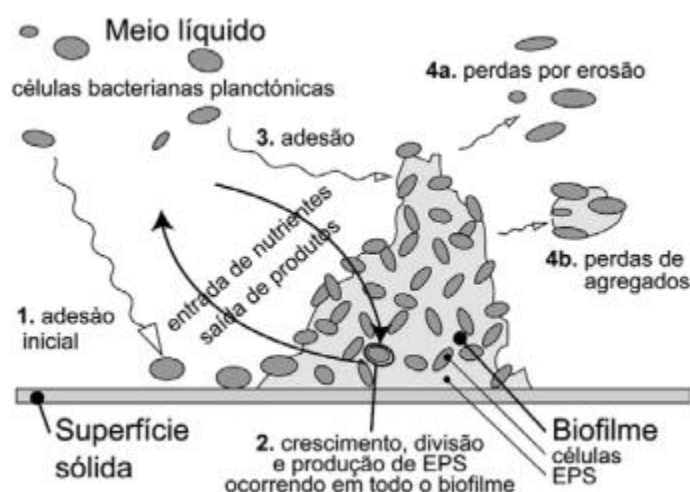
Pesquisas e estudos relacionados a biodegradação dos compostos fenólicos tem sido realizadas por diversos pesquisadores (PASSOS *et al.*, 2009; EL-NAAS *et al.*, 2010; BANERJEE e GHOSHAL, 2010; PRADEEP *et al.*, 2015; SIVASUBRAMANIAN e NAMASIVAYAM, 2015; FELSHIA *et al.*, 2017) com o objetivo de identificar as interações presentes na degradação de misturas de substratos. Os principais motivos que levam aos efeitos de interação (sinérgicos e/ou antagônicos) durante a biodegradação dos compostos fenólicos podem ser devido à inibição competitiva (BIELEFELDT e STENSEL, 1999), à toxicidade e formação de intermediários tóxicos por enzimas não específicas (WANG e LOH, 2000), além da indução enzimática (DEEB *et al.*, 2001).

Avanços expressivos na área de tratamento biológico de efluentes foram alcançados através de processos que utilizam biofilmes suportados em materiais inertes particulados. Processo este que vem se tornando cada vez mais popular devido as suas vantagens de alta concentração de biomassa. De acordo com Xavier *et al.* (2003), o biofilme pode ser definido como um conjunto de micro-organismos e de produtos extracelulares que se aderem sobre um suporte sólido, formando uma camada volumosa e espessa, com uma estrutura externa não totalmente regular e uniforme. Sua formação e acumulação em superfícies sólidas é um fenômeno natural que acontece em meios aquosos e resulta de processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem simultaneamente.

De acordo com Xavier *et al.* (2003) a Figura 3 apresenta as diferentes etapas envolvidas na formação de um biofilme sobre uma superfície sólida em contato com um meio aquoso:

1. Transporte de células livres do meio líquido para uma superfície sólida seguida de sua fixação.
2. Crescimento e divisão de células fixas devido ao consumo dos nutrientes advindos do líquido circundante, em conjunto com a produção e excreção de EPS (poliestireno expandido);
3. Fixação de células bacterianas flutuantes (e outras partículas), colaborando na acumulação do biofilme;
4. Libertação de material celular segundo dois mecanismos diferentes: (a) perdas por erosão (perda de células individuais) ou (b) perda de agregados maiores.

Figura 3: Etapas envolvidas na formação de biofilmes.



Fonte: XAVIER *et al.*, 2003.

O biofilme proporciona, aos micro-organismos que o constituem, importantes benefícios, tais como: aumento da concentração de nutrientes nas interfaces líquido-biofilme, proteção contra

fatores ambientais agressivos (flutuações de pH, concentrações de sais e metais pesados, desidratação, forças de tensão de corte, substâncias químicas agressivas, bactericidas, antibióticos e predadores), possibilidade de troca de material genético devido ao longo tempo de retenção dos micro-organismos, bem como a utilização de substratos de difícil degradação (XAVIER *et al.*, 2003; MASSALHA *et al.*, 2007; MELLO, 2007).

As principais vantagens dos biorreatores com biofilme aderido sobre os biorreatores convencionais são: maior concentração de biomassa retida com maior atividade metabólica; elevada eficiência na remoção de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio); aplicação de maior carga orgânica; coexistência da atividade metabólica anóxica e aeróbia dentro do mesmo ecossistema de biomassa; inexistência da necessidade de retornar o lodo ao reator biológico; instalações mais compactas; possuem grande área de transferência de massa entre as fases; têm maior capacidade de tolerar poluentes recalcitrantes e tóxicos, assim como outras condições ambientais adversas (MOCE e MATA-ALVAREZ, 2002; XAVIER *et al.*, 2003; MASSALHA *et al.*, 2007; MELLO, 2007; RIBEIRO, 2018).

Elementos como densidade, rugosidade, porosidade, tamanho dos poros e forma da superfície podem afetar o biofilme, a velocidade de colonização microbiana no suporte e a estrutura do biofilme. Sendo que a adesão dos micro-organismos a superfícies depende das propriedades superficiais dos suportes, das propriedades microbiológicas dos micro-organismos e das propriedades do meio aquoso (XAVIER *et al.*, 2003). Diferentes materiais porosos têm sido utilizados como suporte para imobilização de biomassa. Dos quais pode-se citar: carvão ativado, suportes poliméricos, espuma de poliuretano, areia, entre outros. (VOICE *et al.*, 1992; GUERIN, 2002; BERTIN *et al.*, 2004;).

Neste trabalho o biofilme foi aderido no resíduo de cascas de ovos, a composição química das cascas de ovos permite a ela uma morfologia porosa que atualmente têm sido muito estudadas pelo seu potencial em processos de adsorção (KOSE E KIVANC, 2011; BOUKHLIFI *et al.*, 2013; CHRAIBI *et al.*, 2016). A casca de ovo consiste tipicamente em materiais cerâmicos constituídos por uma estrutura de três camadas: a cutícula na superfície exterior, uma camada calcária e uma camada lamelar no interior. As camadas calcária e lamelar formam uma matriz composta por fibras proteicas ligadas a cristais de carbonato de cálcio (BOUKHLIFI *et al.*, 2013).

A composição química da casca de ovo é formada por cerca de 94 % de carbonato de cálcio, 1% de carbonato de magnésio, 1% de fosfato de cálcio 4% de materiais orgânicos (STADELMAN, 2000) . Tendo em vista a utilização sustentável da casca do ovo e sua estrutura intrínseca de poros

(BOUKHLIFI *et al.*, 2013), a caracterização do biomaterial é muito escassa na literatura. Neste trabalho, a reutilização de resíduos de casca de ovo foi investigada do ponto de vista da reciclagem de resíduos e remoção de fenol e p-nitrofenol em solução aquosa.

Desta maneira, o presente estudo buscou avaliar através de procedimentos experimentais a eficiência de remoção do fenol e do p-nitrofenol de águas residuais sintéticas, utilizando biorreator em batelada e como suporte utilizou-se para a adesão da biomassa um resíduo da agroindústria, a casca de ovo, que nos dias atuais também é considerada um problema ambiental devido as grandes quantidades produzidas.

2. OBJETIVOS

Com base no exposto anteriormente, pôde-se estabelecer os objetivos que buscou-se alcançar através da execução do trabalho, os quais são descritos a seguir.

2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral para este estudo é realizar a biodegradação em reator batelada de fenol e p-nitrofenol presente em águas residuais sintéticas, utilizando biofilme suportado em casca de ovo.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Visando atingir o objetivo geral proposto, alguns objetivos específicos são necessários, tais como:

- Realizar o crescimento dos micro-organismos na superfície da casca de ovo em meios contendo fenol e p-nitrofenol utilizando reatores em batelada;
- Obter as cinéticas de biodegradação do fenol e do p-nitrofenol em reator batelada para as diferentes condições experimentais;
- Obter os parâmetros cinéticos da biodegradação do fenol e do p-nitrofenol em reatores batelada.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nas dependências do Laboratório de Efluentes e Resíduos, e do Laboratório de Química da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS *Campus* Erechim. Todos os experimentos foram feitos em duplicata utilizando-se um limite de confiança de 95%.

3.1. MATERIAIS

3.1.1 Águas residuais sintéticas

Neste estudo foi utilizado na formulação das águas residuais sintéticas os seguintes reagentes: Fenol e p-nitrofenol em grau analítico (99%). Sendo as concentrações utilizadas diluídas em águas destilada, não houve ajuste de pH antes dos ensaios, trabalhou-se assim em pH natural da solução na faixa de 6,8- 6,9.

3.1.2. Inóculo

O inóculo contendo a biomassa microbiana foi obtido na Estação de Tratamento de Efluentes da empresa Ouro Verde Papéis e Embalagens Ltda, situada no município de Paulo Bento – RS, os quais contém micro-organismos tolerantes a ambientes com a presença de compostos fenólicos.

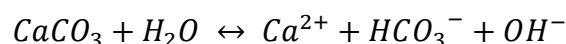
3.1.3 Suporte para fixação do biofilme

Para a imobilização da biomassa o material utilizado como suporte foi a casca de ovo, um resíduo oriundo de incubatórios de aves da região. Seguindo adaptação metodológica de Slimani *et al.*, (2014), as cascas foram primeiramente higienizadas em água corrente para retirada da película interna que pode inibir o crescimento dos micro-organismos, posteriormente as mesmas foram lavadas com água destilada e postas para secar em uma estufa (Solab, modelo SL100 - 180) durante 12 horas, à uma temperatura de 100 °C. Com as cascas devidamente secas ocorreu a etapa de trituração, onde o suporte utilizado apresentou a granulometria entre 10 e 20 *mesh*. O material

resultante foi novamente condicionado à um regime de secagem, durante 24 horas, à uma temperatura de 105 °C. O suporte sólido tem a função de acumular quantidades de biomassa gerando um aumento do tempo de retenção celular no reator.

3.1.4 Solução mineral utilizada para o crescimento do biofilme

A solução mineral que recria as condições ambientais do meio *in situ* foi realizada segundo adaptação da metodologia usada por Mello (2007). A solução foi composta por macro e micronutrientes, uma fonte de nitrogênio e outra de oxigênio, além de ser integrada com uma solução tampão, que estabiliza o pH em numa faixa neutra. No tocante ao pH deve-se levar em consideração a seguinte reação que ocorre com o carbonato de cálcio em meio aquoso:



A presença dos íons OH^- leva à alcalinização do meio (PETTINATO *et al.*, 2015), sendo desfavorável para um processo de biodegradação em reatores, que possui inóculos adaptados a um pH próximo a 7.

Os macros nutrientes presentes na solução foram o $CaCl_2$ (7,40 mg L⁻¹) e o $MgSO_4 \cdot 6 H_2O$ (463,00 mg L⁻¹), os micronutrientes foram o $MnSO_4 \cdot H_2O$ (10,00mg L⁻¹) e o $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ (2,00 mg L⁻¹). A solução tampão foi composta pelo sal ácido KH_2PO_4 (0,50 g L⁻¹) e a sua base conjugada K_2HPO_4 (0,50 g L⁻¹). A fonte de nitrogênio foi o composto $(NH_4)_2SO_4$ (0,50 g L⁻¹) e a fonte de oxigênio foi o H_2O_2 30% (100 µL).

3.1.5 Biorreatores

Os experimentos, para obtenção da cinética de biodegradação do fenol e do p-nitrofenol, foram realizados utilizando-se biorreatores em batelada, em escala de bancada, que operaram em temperatura ambiente entre 20 – 25 °C com sistema de agitação em velocidade pré-determinadas. Foram utilizados como biorreatores béqueres de 400 mL fechados com papel filme e com abertura no centro para entrada de ar, colocados em agitador mecânico (Mesa Aditadora SL - 180/DL) em velocidade de 60 rpm.

Tendo em posse o material para inóculo, as cascas de ovo como suporte foram constituídos os dois biorreatores, com 40g de casca de ovo em cada um deles.

3.1.6 Imobilização e adaptação da biomassa aeróbia

Para imobilização e adaptação da biomassa foram adicionados aos biorreatores 40 g de casca de ovo, 230 mL do meio mineral, 50 mL do inóculo, 150 mg L⁻¹ de sacarose (fonte de carbono) e em média de 50 a 100 µL de peróxido de hidrogênio (como fonte de oxigênio).

Os biorreatores foram colocados em um agitador mecânico (*Mesa Agitadora*) à temperatura ambiente, durante o experimento, com a finalidade de uma melhor homogeneização do meio, impedindo gradientes diferenciados de concentrações internas no biorreator.

Num período inicial de 30 dias houve trocas e reposição das soluções nutrientes dos biorreatores. Em cada procedimento realizados, diariamente, foram retirados 100 mL da solução nutritiva integral com reposição de 100 mL da solução de meio mineral, de 100 µL de peróxido de hidrogênio e 1 mL de glicose concentrada como fonte de carbono. Este processo objetivou a fixação da biomassa no suporte. Em cada procedimento foram realizadas análises de DQO para certificar de que os micro-organismos estavam adaptando-se ao meio.

Foram medidas, diariamente, a concentração de oxigênio dissolvido no meio, com o auxílio de oxímetro, para certificar que a concentração de oxigênio dissolvido (OD) no meio manteve-se acima de 2 mg L⁻¹. Além da concentração de oxigênio dissolvido foram realizadas, em cada biorreator, análise de pH e de condutividade. Após este período, iniciou-se a adição dos compostos fenólicos aos biorreatores com conseqüente redução do teor de glicose.

A introdução gradativa dos compostos fenólicos nos biorreatores, sempre utilizando a mesma variabilidade de concentração em todos. Inicialmente a redução da quantidade de glicose, com adição de fonte de carbono com compostos fenólicos ao meio, foi equivalente a 10%, e o restante dos 90% permaneceu como glicose.

Na seqüência os biorreatores foram alimentados durante 10 dias com essas proporções. Durante esse período foram feitas diariamente análises de oxigênio dissolvido (OD), pH e condutividade. Após, completados 10 dias desta fase, a quantidade dos compostos fenólicos no meio aumentou para 20% e a concentração de glicose passou para 80%, continuando nesta proporção por 10 dias. E assim sucessivamente, a concentração de carbono procedente dos compostos fenólicos foi sendo aumentada de 20 em 20% até alcançar 100% nos mesmos espaços de

tempo. A adaptação às fontes fenólicas de carbono foram realizadas conforme o cronograma da Tabela 1.

O período de substituição dos nutrientes com aumento gradativo da alimentação com compostos fenólicos durou em torno de três meses. Depois de passados 10 dias de alimentação com os compostos fenólicos, como única fonte de carbono, iniciaram-se as cinéticas de biodegradação conforme metodologia adaptada de Ribeiro (2018).

Tabela 1: Configurações das fontes de carbono durante o período de adaptação.

| Dias | Biorreator 1 | Biorreator 2 |
|-------------|------------------------|-------------------------------|
| 1 – 30 | 100% glicose | 100% glicose |
| 31 – 40 | 80% glicose, 20% fenol | 80% glicose, 20% p-nitrofenol |
| 41 – 50 | 60% glicose, 40% fenol | 60% glicose, 40% p-nitrofenol |
| 51 – 60 | 40% glicose, 60% fenol | 40% glicose, 60% p-nitrofenol |
| 61 – 70 | 20% glicose, 80% fenol | 20% glicose, 80% p-nitrofenol |
| 71 – 80 | 100% fenol | 100% p-nitrofenol |

A Figura 4 mostra a aparência dos biorreatores após o período de adaptação.

Figura 4: Biorreatores em batelada na mesa agitadora, após o período de adaptação



Fonte: AUTORA, 2018.

Este procedimento de adaptação dos compostos fenólicos é imprescindível, devido à sua alta toxicidade para os seres vivos. A opção por um procedimento de adaptação gradativa da biomassa aos compostos buscou impedir um processo agudo de toxicidade evitando a possibilidade de morte ocasional ou inibição das células microbianas.

3.2. PROCEDIMENTO E MÉTODOS ANALÍTICOS

3.2.1 Sólidos suspensos totais, suspensos fixos totais e suspensos voláteis

A determinação de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV) foi realizada conforme a Norma Técnica Interna SABESP NTS 013 (1999).

3.2.2 Concentração de oxigênio (OD)

A concentração de oxigênio dissolvido (OD) foi medida diariamente, durante o processo de degradação dos compostos fenólicos pela biomassa, com auxílio de um oxímetro digital microprocessado (*Alfakit* - modelo AT - 160).

3.2.3 pH

Os valores de pH em cada biorreator foram medidos diariamente, durante o processo de degradação dos compostos fenólicos pela biomassa, por um pHmetro digital (*Hanna Instruments* – modelo HI -2221).

3.2.4 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica permite o monitoramento do consumo dos nutrientes no biorreator, e foi medida diariamente, durante o processo de degradação dos compostos fenólicos através de um condutímetro digital (*Digimed* – modelo DM - 32) em unidade de medida $\mu\text{S cm}^{-1}$.

3.2.5 Análise de DQO

A análise de DQO (Demanda Química de Oxigênio), em cada biorreator foi realizada durante o crescimento com o intuito de observar se os micro-organismos removiam os compostos tóxicos, e realizada pelo Método Colorimétrico. Para digestão das amostras foi utilizado um bloco digestor Thermo Digest marca Policontrol, e para leitura da absorbância foi utilizado um espectrofotômetro da marca Nova Instrumentos, modelo 1600 UV., com leituras feitas em um comprimento de onda $\lambda = 500$ nm, seguindo padrões adotados pela *American Public Health Association – Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005) Norma 5220 D.

3.2.6 Análise dos compostos fenólicos

A concentração de fenol e p-nitrofenol foi medida pelo método fotométrico direto (APHA, 2005), com leitura em espectrofotômetro da marca Nova Instrumentos, modelo 1600 UV.

3.2.6.1 Análise de fenol pelo método fotométrico direto

Para a determinação do fenol presente nas amostras do efluente antes e após os tratamentos, bem como no preparo da curva padrão adotada nas análises utilizou-se o método fotométrico direto por UVvis, através de espectrofotômetro em 500 nm, metodologia está apresentada no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (1995).

3.2.6.2 Análise de p-nitrofenol pelo método fotométrico direto

Para a determinação do p-nitrofenol presente nas amostras do efluente antes e após os tratamentos, bem como no preparo da curva padrão adotada nas análises utilizou-se o método fotométrico direto por UVvis, através do espectrofotômetro em 400 nm, metodologia apresentada em Al-Asgeh, *et al.*, (2004).

3.2.7 Análise do biofilme suportado - quantificação da biomassa

Para a quantificação da biomassa foi realizada a extração da proteína, por meio da biomassa aderida ao suporte e da biomassa livre (em suspensão) no reator. Estas foram analisadas em termos de concentração de proteínas, pelo método de Lowry, conforme metodologia proposta por Bergamasco (1996) e Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) conforme APHA, 2005.

3.2.8 Cinética de biodegradação

Após a adaptação dos micro-organismos com alimentação de 100% dos compostos fenólicos como única fonte de carbono, realizou-se as cinéticas de biodegradação de fenol e de p-nitrofenol nas concentrações de 5, 10 e 15 mg L⁻¹, o primeiro ponto da cinética, considerado como o tempo zero (0), foi coletado logo após a adição do efluente sintético nos biorreatores. Os demais pontos foram coletados a cada 30 minutos, durante as 2 (duas) primeiras horas, e posteriormente a cada 60 minutos até se completar a cinética, ou seja, as curvas cinéticas foram obtidas durante o tempo necessário para que todo o composto fosse biodegradado.

Durante os experimentos das cinéticas de biodegradação do fenol e do p-nitrofenol foram constantemente avaliadas a concentração de oxigênio dissolvido (OD), bem como os valores de pH e de condutividade elétrica. A Tabela 2 abaixo apresenta a composição do sistema utilizado para avaliar a biodegradação do fenol e do p-nitrofenol presente no efluente sintético. Os ensaios foram realizados em duplicata, sendo que os resultados foram apresentados em um valor de concentração média.

Tabela 2: Composição sistema presente nos biorreatores.

| Composição | Biorreator 1 | Biorreator 2 |
|----------------------|--|--|
| Fonte de carbono | Fenol (165,0 µL) | p-nitrofenol (165,0 µL) |
| Fonte de oxigênio | H ₂ O ₂ 30% (100,0 µL) | H ₂ O ₂ 30% (100,0 µL) |
| Matriz de CO* | 40,0 g | 40,0 g |
| Efluente de celulose | 50,0 mL | 50,0 mL |
| Solução Mineral | 230,0 mL | 230,0 mL |
| Total líquido | 280,0 mL | 280,0 mL |

* CO = casca de ovo

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO INÓCULO

A Tabela 3 apresenta a caracterização físico-química do lodo. A caracterização dos parâmetros físico químicos do lodo foi realizada considerando-se a análise de pH, o OD, a Condutividade, a DQO, os Sólidos Totais e os Sólidos Suspensos Voláteis. A temperatura inicial obtida para o inóculo foi de 26 °C.

Tabela 3: Dados físico-químicos do inóculo obtido na estação de tratamento de efluentes (ETE) da indústria de papel e celulose.

| Parâmetros | Média |
|--|---------|
| pH | 6,9 |
| Oxigênio Dissolvido (mg L ⁻¹) | 0,6 |
| Condutividade (µS cm ⁻¹) | 771,4 |
| Fenol (mg L ⁻¹) | 65,1 |
| P-nitrofenol (mg L ⁻¹) | 1,03 |
| DQO (mg O ₂ L ⁻¹) | 1.185,9 |
| Sólidos Totais (mg L ⁻¹) | 4.152,3 |
| Sólidos Suspensos Voláteis (mg L ⁻¹) | 3.306,7 |

O inóculo adicionado na obtenção do biofilme com suporte de casca de ovo no sistema de crescimento e imobilização da biomassa, realizada em biorreator de agitação mecânica, continha uma concentração inicial de 65,1 mg L⁻¹ de fenol e 1,03 mg L⁻¹ de p-nitrofenol, assim acredita-se que as espécies microbianas presentes no inóculo já apresentam certa resistência aos compostos estudados.

4.2 DESENVOLVIMENTO DA BIOMASSA ADERIDA

A quantidade de biomassa nos biorreatores é devida a presença dos micro-organismos. Quanto maior a quantidade de biomassa aderida no suporte maior é o consumo do substrato. Para os dois compostos fenólicos estudados, o consumo do substrato foi mais rápido no sistema contendo

fenol se comparado ao sistema contendo p-nitrofenol. A Tabela 4 apresenta as quantidades de biomassa presentes nos biorreatores de fenol e de p-nitrofenol, em suporte e suspensão, obtida por meio da análise de proteínas, sendo que estas foram realizadas em triplicatas da amostra, com a mesma massa de cada reator. Os cálculos dos resultados obtidos foram apresentados no Apêndice D.

Tabela 4: Resultados obtidos das quantidades de proteína, em mg L^{-1} , para o biorreator contendo fenol (BCF) e para o biorreator contendo p-nitrofenol (BCP).

| Parâmetro/Amostras | BCF | BCP |
|---|------------|------------|
| Massa da Partícula Seca ^a (g) | 0,60 | 0,59 |
| Concentração Proteína aderida ao suporte (mg L^{-1}) | 2.788,57 | 2.245,71 |
| Proteína ($\text{mg g}_{\text{suporte}}^{-1}$) | 23,24 | 19,03 |
| Proteína em suspensão (mg L^{-1}) | 0,46 | 2,17 |

^a Massa da partícula seca (casca de ovo mais biofilme) em gramas.

Através da Tabela 4 foi possível observar a quantidade de biomassa aderida ao suporte e relacionar com o consumo do fenol e do p-nitrofenol. No biorreator contendo fenol, a quantidade obtida de biomassa aderida foi de $23,24 \text{ mg g}_{\text{suporte}}^{-1}$, enquanto que no biorreator contendo p-nitrofenol a quantidade de biomassa encontrada foi de $19,03 \text{ mg g}_{\text{suporte}}^{-1}$. No que se refere a biomassa em suspensão foi encontrado um menor valor para o biorreator contendo fenol, $0,46 \text{ mg L}^{-1}$, se comparado ao biorreator contendo p-nitrofenol, $2,17 \text{ mg L}^{-1}$, assim constatou-se que houve uma maior adesão dos micro-organismos a casca de ovo no biorreator que operava com o fenol, e por isso uma menor quantidade de biomassa em suspensão, este resultado condiz com a análise de proteína aderida ao suporte ($2.788,57 \text{ mg L}^{-1}$).

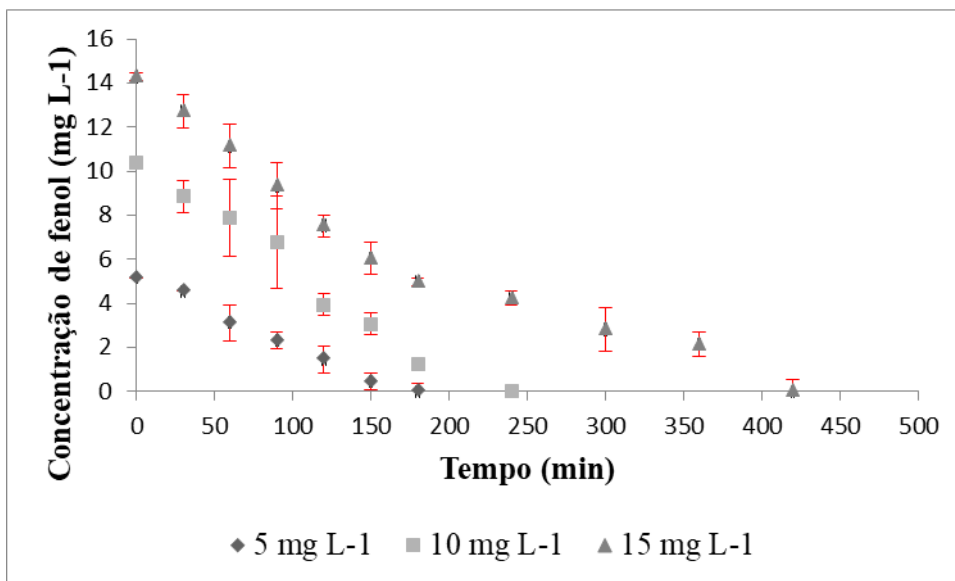
4.3 CURVAS DE BIODEGRADAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS EM BATELADA

4.3.1 Biorreator contendo fenol

Após o período de adaptação, analisou-se o consumo dos compostos fenólicos pelos micro-organismos por meio da biodegradação. Nos ensaios cinéticos de biodegradação, em batelada, de água residuária sintética contendo fenol, cada biorreator foi submetido a três diferentes

concentrações: 5, 10 e 15 mg L⁻¹, estas concentrações foram escolhidas com base em dados da literatura, visto que, concentrações maiores podem inibir o crescimento dos micro-organismos (SANTOS e LINARDI, 2003; BERA *et al.*, 2017), além disto, estas concentrações são superiores as permitidas pela legislação. Os resultados do consumo do fenol nas diferentes concentrações analisadas em função do tempo estão apresentados na Figura 5 as barras vermelhas representam o desvio padrão de cada ensaio em diferente concentração.

Figura 5: Cinética de biodegradação do fenol em diferentes concentrações iniciais.



Observando-se o gráfico da Figura 5, verifica-se que a quantidade de substrato consumido pela biomassa varia em função do tempo. Quando a concentração de substrato diminui a velocidade de degradação também tende a diminuir, demonstrando que a velocidade de degradação é diretamente proporcional à concentração do substrato. Já no início do processo há uma maior concentração do substrato que é consumida em uma velocidade relativamente maior. Isso ocorre porque, nesta fase, o substrato está presente em quantidades ideais para a biomassa (YANG e HUMPHREY, 1975).

O pH inicial dos experimentos realizados em duplicata variaram entre 6,90 - 6,95 para 5 mg L⁻¹, entre 6,84 - 6,94 para 10 mg L⁻¹ e 6,90 - 6,94 para 15 mg L⁻¹, esperava-se resultados de pH constantes e próximos ao pH obtido nos testes para o inóculo. A concentração do oxigênio dissolvido (OD) em todas as amostras analisadas apresentou diminuição ao longo do experimento. Os valores experimentais de pH e oxigênio dissolvido (OD), este último adicionado, na forma de

peróxido somente no início dos experimentos para as concentrações de fenol de 5 mg L^{-1} , 10 mg L^{-1} e 15 mg L^{-1} , respectivamente, são apresentados nas Figura 6 e Figura 7.

Figura 6: Valores das concentrações de pH na biodegradação em batelada do fenol, para diferentes concentrações iniciais.

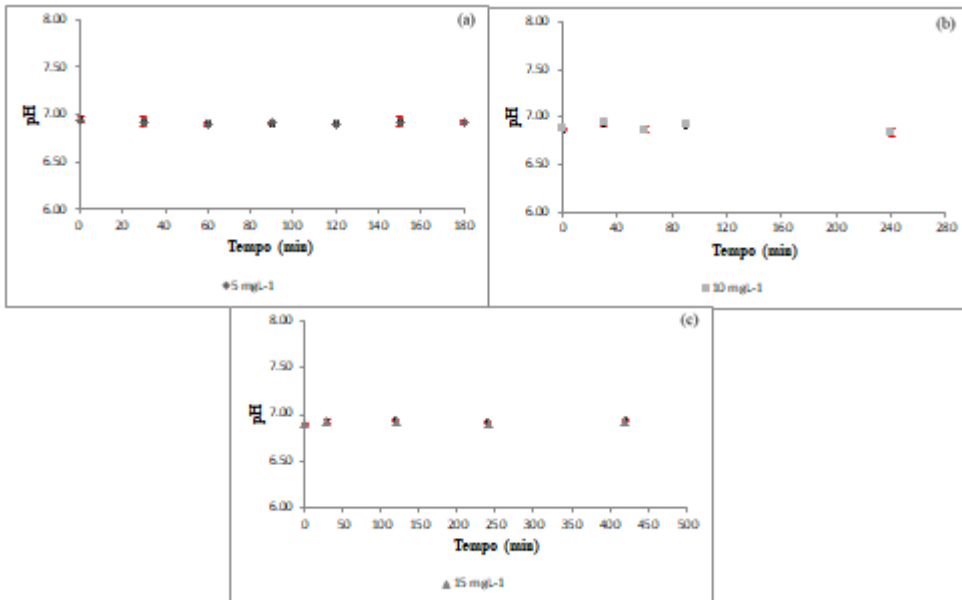
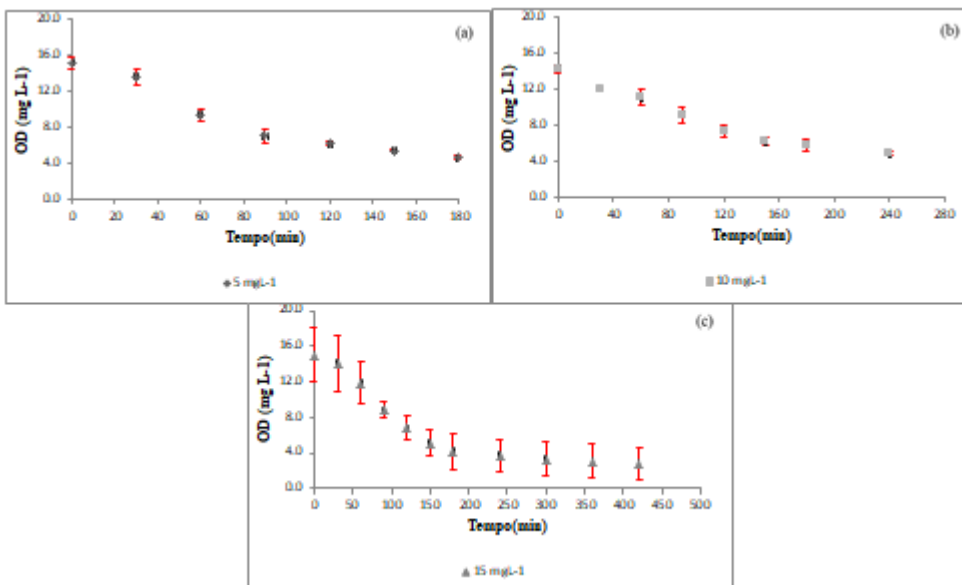


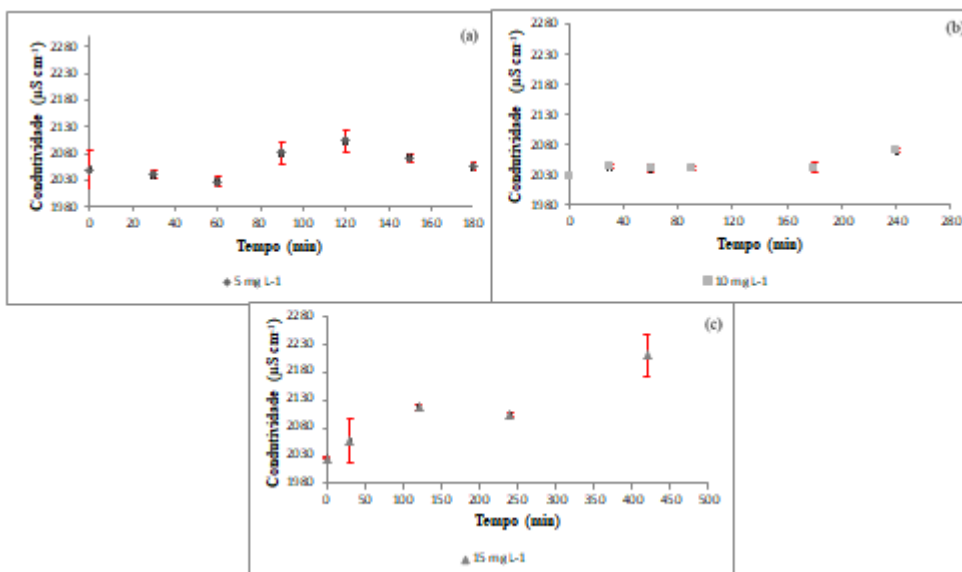
Figura 7: Valores das concentrações de OD na biodegradação em batelada do fenol, para diferentes concentrações iniciais.



Cabe salientar que no início do ensaio cinético em batelada foi adicionado ao biorreator o peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , 30%), isso explica os altos valores de oxigênio dissolvido nos primeiros pontos de coleta (Figura 7). O comportamento observado no monitoramento do oxigênio dissolvido presente no sistema leva a crer que além do consumo por parte dos micro-organismos presentes no biofilme, podem ter ocorrido perdas para o ambiente, visto que a 25°C a quantidade máxima dissolvida em meio líquido de oxigênio é de cerca de 8 mg L^{-1} .

A condutividade elétrica dos experimentos realizados em duplicata variaram entre $2028 - 2104\ \mu\text{S cm}^{-1}$ para o ensaio realizado utilizando 5 mg L^{-1} , entre $2.028 - 2.070\ \mu\text{S cm}^{-1}$ para o de 10 mg L^{-1} e $2.026 - 2.210\ \mu\text{S cm}^{-1}$ para o de 15 mg L^{-1} . O gráfico da condutividade em função do tempo para as concentrações de fenol de 5 , 10 e 15 mg L^{-1} , respectivamente, são apresentados nas Figura 8. A condutividade elétrica possibilita o monitoramento do consumo dos nutrientes no biorreator, a variação de sais, o consumo pode mudar de acordo com a presença dos íons, quanto mais íons, maior a condutividade elétrica.

Figura 8: Valores das concentrações de Condutividade elétrica na biodegradação em batelada do fenol, para diferentes concentrações iniciais.



A Tabela 5 apresenta um resumo dos valores experimentais obtidos na cinética de biodegradação do fenol em diferentes concentrações iniciais.

Tabela 5: Valores obtidos na cinética de biodegradação do fenol em diferentes concentrações iniciais.

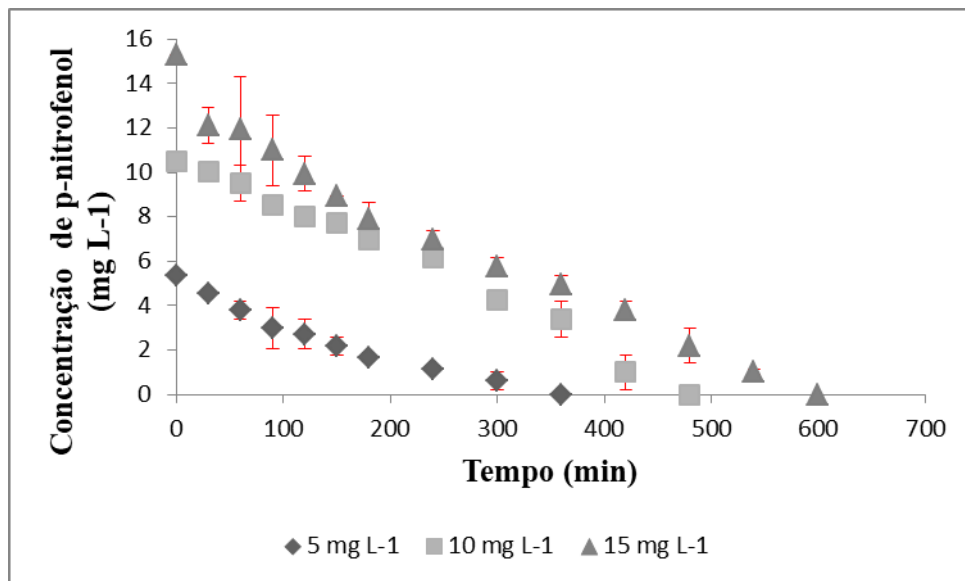
| Concentração (mg L ⁻¹) | Degradação (%) | Tempo (min) | pH | OD (mg L ⁻¹) | Condutividade (μS cm ⁻¹) |
|---------------------------------------|-------------------|----------------|-------------|-----------------------------|---|
| 5 | 100 | 180 | 6,90 – 6,95 | 15,12 – 4,55 | 2.028 – 2.104 |
| 10 | 100 | 240 | 6,84 – 6,94 | 14,17 – 4,82 | 2.028 – 2.070 |
| 15 | 100 | 420 | 6,90 – 6,94 | 15,01 – 2,88 | 2.026 – 2.210 |

Com base nos resultados obtidos, foi possível verificar que a biomassa foi capaz de degradar quantidades de fenol em diferentes concentrações iniciais. Os experimentos foram realizados em duplicata e em diferentes datas, no espaço de 180 minutos, houve o consumo de 100 % do fenol pela biomassa na concentração de 5 mg L⁻¹. Para as concentrações de 10 e 15 mg L⁻¹ o substrato também foi consumido em sua totalidade (100 %) num espaço de tempo de 240 minutos e 420 minutos, respectivamente.

4.3.2 Biorreator contendo p-nitrofenol

Nos ensaios cinéticos de biodegradação, em batelada, de água residuária sintética contendo p-nitrofenol, novamente cada biorreator foi submetido a três diferentes concentrações: 5, 10 e 15 mg L⁻¹, estas concentrações foram escolhidas com base em dados da literatura, além disto estas concentrações são superiores as permitidas pelas legislações. Os resultados do consumo do p-nitrofenol nas diferentes concentrações analisadas em função do tempo são apresentados na Figura 9. As barras vermelhas representam o desvio padrão de cada concentração.

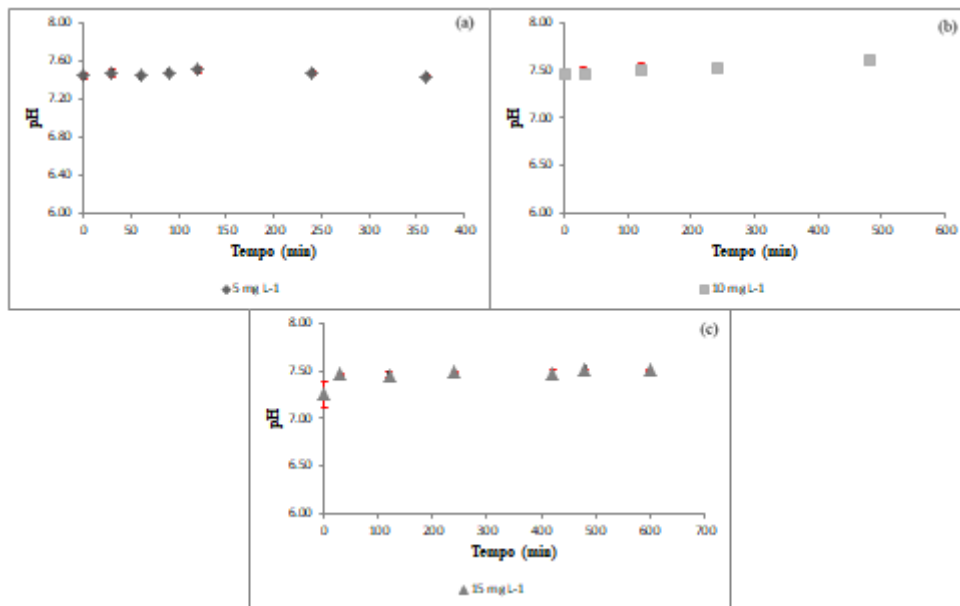
Figura 9: Cinética de biodegradação do p-nitrofenol em diferentes concentrações iniciais.



Os resultados obtidos mostram que o p-nitrofenol é totalmente consumido a partir de 600 minutos de reação, sendo este valor de tempo menor para os ensaios utilizando as menores concentrações (5 e 10 mg L⁻¹). Através da Figura 9 é possível observar que a afinidade dos microorganismos pelo contaminante p-nitrofenol é menor que a observada para o fenol, sendo que em todos os ensaios realizados os tempos necessários para o consumo total do contaminante foram superiores aos obtidos para o fenol, mostrando assim que a toxicidade deste composto pode apresentar um efeito inibitório retardando seu consumo como fonte de carbono pelas células microbianas, o consumo em menor velocidade do p-nitrofenol também pode estar associado a menor quantidade de células aderidas formando o biofilme conforme é possível constatar nos resultados de proteína em mg g⁻¹ de suporte (Tabela 4).

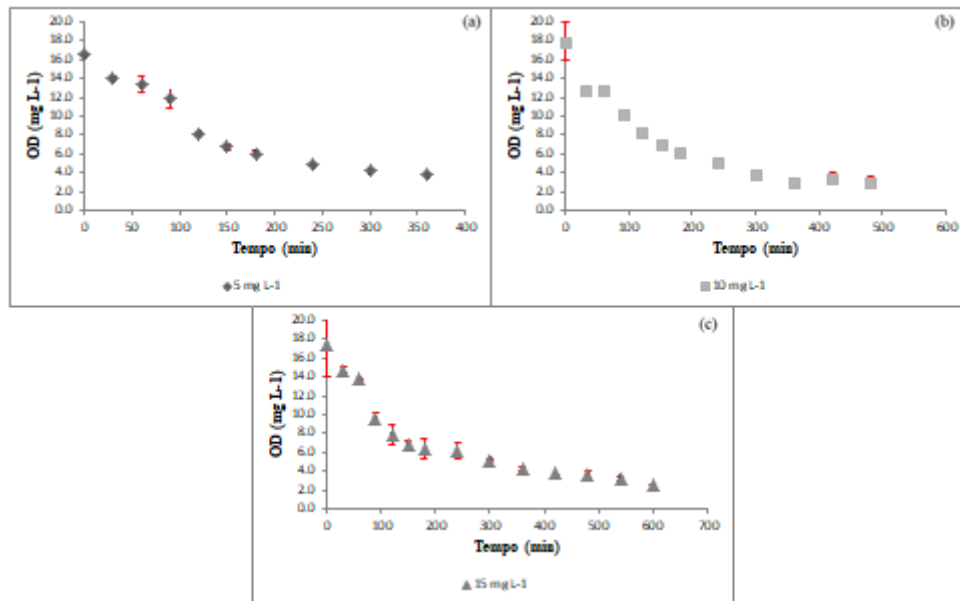
Quanto ao monitoramento do pH durante o processo de biodegradação, não observaram-se variações expressivas no período. O mesmo manteve-se na faixa entre 7,44 – 7,51 para o ensaio utilizando 5 mg L⁻¹, entre 7,48 - 7,63 para o de 10 mg L⁻¹ e 7,26 - 7,52 para o de 15 mg L⁻¹. Os valores experimentais de pH e oxigênio dissolvido (OD), este último adicionado, na forma de peróxido, sempre e somente no início do experimento para as concentrações de p-nitrofenol de 5, 10 e 15 mg L⁻¹, respectivamente, são apresentados nas Figura 10 e Figura 11.

Figura 10: Valores das concentrações de pH na biodegradação em batelada do p-nitrofenol, para diferentes concentrações iniciais.



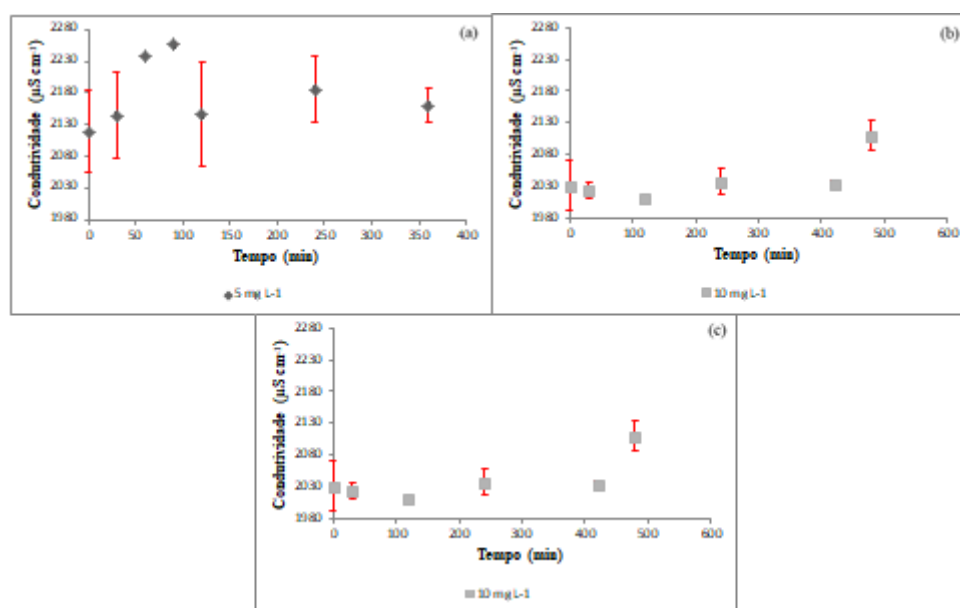
A concentração do oxigênio dissolvido (OD) nas três diferentes concentrações (Figura 11) analisadas apresentou diminuição ao longo do experimento, o que era esperado, visto que, parte do oxigênio é perdida para o ambiente externo devido a temperatura utilizada nos ensaios, e parte é consumida pelos micro-organismos, que possivelmente sejam facultativos, pois o sistema utilizado neste estudo é o de batelada aeróbio, no entanto por não haver uma agitação vigorosa, podem ocorrer regiões com baixa taxa de oxigenação no fundo dos reatores. Cabe novamente salientar que no início do experimento em batelada foi adicionado ao biorreator o peróxido de hidrogênio (H₂O₂, 30%), isso explica os altos valores de oxigênio dissolvido nos primeiros pontos de coleta. O comportamento observado no monitoramento do oxigênio dissolvido presente no sistema leva a crer que além do consumo por parte dos micro-organismos presentes no biofilme, podem ter ocorrido perdas para o ambiente, visto que a 25° C a quantidade máxima dissolvida em meio líquido de oxigênio é de cerca de 8 mg L⁻¹.

Figura 11: – Valores das concentrações de OD na biodegradação em batelada do p-nitrofenol, para diferentes concentrações iniciais.



A condutividade elétrica possibilita o monitoramento do consumo dos nutrientes no biorreator, e quanto maior a quantidade de íons, maior a condutividade. Sendo assim, condutividade elétrica dos experimentos realizados em duplicata variaram entre 2.119 – 2.256 $\mu\text{S cm}^{-1}$ para os ensaios com 5 mg L⁻¹ de p-nitrofenol, entre 2.009 – 2.110 $\mu\text{S cm}^{-1}$ para o de 10 mg L⁻¹ e 1.990 – 2.111 $\mu\text{S cm}^{-1}$ para o de 15 mg L⁻¹. O gráfico da condutividade em função do tempo para as concentrações de p-nitrofenol de 5, 10 e 15 mg L⁻¹, respectivamente, são apresentados nas Figura 12.

Figura 12: Valores das concentrações de Condutividade elétrica na biodegradação em batelada do p-nitrofenol, para diferentes concentrações iniciais.



A Tabela 6 apresenta um resumo dos valores experimentais obtidos na cinética de biodegradação do p-nitrofenol em diferentes concentrações iniciais.

Tabela 6: Valores obtidos na cinética de biodegradação do p-nitrofenol em diferentes concentrações iniciais.

| Concentração (mg L ⁻¹) | Degradação (%) | Tempo (min) | pH | OD (mg L ⁻¹) | Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$) |
|---------------------------------------|-------------------|----------------|-------------|-----------------------------|--|
| 5 | 100 | 360 | 7,44 – 7,51 | 11,34 – 3,80 | 2.119 – 2.256 |
| 10 | 100 | 480 | 7,48 – 7,63 | 12,79 – 3,04 | 2.009 – 2.110 |
| 15 | 100 | 660 | 7,26 – 7,52 | 14,72 – 2,55 | 1.990 – 2.111 |

4.3.3 Desempenho dos parâmetros cinéticos

Os valores dos parâmetros cinéticos relativos a cada composto fenólico em diferentes concentrações de fenol e p-nitrofenol foram obtidos através da linearização dos pontos experimentais presentes nos gráficos das Figuras 5 e 9 (os gráficos da linearização das curvas de degradação dos compostos fenol e p-nitrofenol encontra-se no Apêndice E). Os cálculos realizados

para obtenção dos parâmetros cinéticos são apresentados no Apêndice F, e de forma resumida, nas Tabelas 7 e 8 que também apresenta a quantidade de biomassa presente nos biorreatores obtida através da análise de proteínas (a metodologia da análise de proteínas encontra-se no Apêndice D).

Tabela 7: Valores da velocidade de degradação, concentração celular e constante de meia saturação experimentais dos biorreatores contendo fenol, para diferentes concentrações.

| Parâmetro | Fenol [Concentração (mg L ⁻¹)] ^a | | |
|---|---|--------------|--------------|
| | 5 | 10 | 15 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [mg mg _{SSV} ⁻¹ s ⁻¹] | 0,0000003669 | 0,0000004507 | 0,0000007922 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [mg L ⁻¹ s ⁻¹] | 0,01709 | 0,02099 | 0,03684 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [mg g _{casca} ⁻¹ s ⁻¹] | 0,00004229 | 0,00005194 | 0,00009129 |
| Concentração celular (X) ^a [mg _{SSV} ·g _{suporte} ⁻¹] | 115,25 | 115,25 | 115,25 |
| Concentração celular (X) ^a [mg _{SSV} L ⁻¹] | 46.577,1 | 46.577,1 | 46.577,1 |
| Constante de meia saturação (K _A) [mg L ⁻¹] | 6,297 | 7,584 | 32,577 |

^a A concentração celular foi mantida nos biorreatores e durante a cinética em batelada, no entanto as concentrações iniciais de fenol em 5 mg L⁻¹, 10 mg L⁻¹ e 15 mg L⁻¹, respectivamente, foram variando.

Tabela 8: Valores da velocidade de degradação, concentração celular e constante de meia saturação experimentais dos biorreatores contendo p-nitrofenol, para diferentes concentrações.

| Parâmetro | P-nitrofenol [Concentração (mg L ⁻¹)] ^a | | |
|---|--|--------------|--------------|
| | 5 | 10 | 15 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [mg mg _{SSV} ⁻¹ s ⁻¹] | 0,0000003685 | 0,0000001379 | 0,0000001377 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [mg L ⁻¹ s ⁻¹] | 0,01636 | 0,006125 | 0,006118 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [mg g _{casca} ⁻¹ s ⁻¹] | 0,00004049 | 0,00001516 | 0,00001514 |
| Concentração celular (X) ^a [mg _{SSV} ·g _{suporte} ⁻¹] | 109,89 | 109,89 | 109,89 |
| Concentração celular (X) ^a [mg _{SSV} L ⁻¹] | 44.410,90 | 44.410,90 | 44.410,90 |
| Constante de meia saturação (K _A) [mg L ⁻¹] | 12,471 | 6,058 | 1,282 |

^a A concentração celular foi mantida nos biorreatores e durante a cinética em batelada, no entanto as concentrações iniciais de p-nitrofenol em 5 mg L⁻¹, 10 mg L⁻¹ e 15 mg L⁻¹, respectivamente, foram variando.

Neste trabalho, para o composto fenol, o valor de K_A foi maior para as maiores concentrações estudadas, indicando maior afinidade pelo efluente com menor concentração, possivelmente sendo esta concentração a que apresentou menor efeito inibitório ao crescimento e consumo pelos micro-organismos, no entanto, para o composto p-nitrofenol, o valor de K_A foi maior para as menores concentrações estudadas, ou seja, para o p-nitrofenol, a maior afinidade é pelo efluente com maior concentração do contaminante. No que refere-se a variável $a_v R_{mA}$, para o composto fenol, ela foi maior para as maiores concentrações de fenol, ou seja, nestas condições o consumo de substrato foi mais rápido, no entanto para o composto p-nitrofenol, a variável foi maior para a menor concentração, indicando que o consumo de substrato foi mais rápido quando da concentração de 5 e 10 mg L⁻¹.

Ajustando-se os dados obtidos experimentalmente para o consumo do fenol nos biorreatores em batelada utilizou-se o modelo cinético de Michaelis-Menten (Equação E.1 – Apêndice E), onde foram obtidas as Equações (1), (2) e (3), para diferentes concentrações iniciais, 5, 10 e 15 mg L⁻¹, respectivamente de fenol nos biorreatores.

$$r_{\text{fenol}} (5 \text{ ppm}) = \frac{0,01709 S}{6,297+S} \quad \text{Eq. (1)}$$

$$r_{\text{fenol}} (10 \text{ ppm}) = \frac{0,02099 S}{7,584+S} \quad \text{Eq. (2)}$$

$$r_{\text{fenol}} (15 \text{ ppm}) = \frac{0,03684 S}{32,577+S} \quad \text{Eq. (3)}$$

Da mesma forma também foram obtidas as Equações (4), (5) e (6), para concentrações iniciais de p-nitrofenol nos biorreatores contendo 5 mg L⁻¹, 10 mg L⁻¹ e 15 mg L⁻¹, respectivamente.

$$r_{p\text{-nitrofenol}} (5 \text{ ppm}) = \frac{0,01636 S}{12,471+S} \quad \text{Eq. (4)}$$

$$r_{p\text{-nitrofenol}} (10 \text{ ppm}) = \frac{0,006125 S}{6,058+S} \quad \text{Eq. (5)}$$

$$r_{p\text{-nitrofenol}} (15 \text{ ppm}) = \frac{0,006118 S}{1,282+S} \quad \text{Eq. (6)}$$

Comparando-se os resultados analisados, para os dois compostos fenólicos percebeu-se que o biorreator contendo fenol (BCF), apresentou resultados superiores, se comparado ao biorreator contendo p-nitrofenol (BCP), com relação à biomassa quantificada em proteína. Ao considerarmos que o biorreator com fenol apresentou maior concentração de proteína e menor quantidade de sólidos em suspensão, demonstrando, assim, uma melhor formação do biofilme aderido ao suporte.

E por consequência as velocidades de consumo do substrato foram maiores comparativamente nas três concentrações consideradas para o fenol (0,01709; 0,02099; 0,03684) em comparação com as velocidades de biodegradação para o p-nitrofenol (0,01636; 0,006125; 0,006118) além do consumo do total substrato ocorrer em tempos menores (entre 180 e 420 minutos).

Observando-se os resultados das Figuras 5 e 9 e os resultados obtidos dos parâmetros cinéticos das Tabelas 7 e 8, o reator com maior concentração de biomassa no suporte, o biorreator contendo fenol (BCF), apresentou um consumo total de fenol do efluente sintético, em tempos bem menores que o biorreator contendo p-nitrofenol (BCP). Um dos motivos de o fenol biodegradar mais rapidamente do que o p-nitrofenol é que a molécula do p-nitrofenol apresenta maior complexidade (maior massa molecular, maior ponto de ebulição, menor solubilidade em água) (MARTINS *et al.*, 2013). Sendo que, estas características podem interferir na velocidade de acesso do micro-organismo ao carbono que compõe a molécula em principal a solubilidade, no entanto o fenol (estrutura mais simples dentro deste grupo) com alta solubilidade em água facilita o trabalho dos micro-organismos quanto ao ataque a molécula.

Os valores do intervalo de confiança da reta de tendência para cada experimento foram obtidos através da linearização dos gráficos (apresentados no Apêndice E), sendo que, para o biorreator contendo fenol (BCF), para cada concentração utilizada, foram obtidos os seguintes R^2 : $R^2 = 0,8763$ (5 mg L⁻¹), $R^2 = 0,9554$ (10 mg L⁻¹) e $R^2 = 0,8663$ (15 mg L⁻¹) e para o biorreator contendo p-nitrofenol (BCP), em cada concentração, foram obtidos os seguintes R^2 : $R^2 = 0,8613$ (5 mg L⁻¹), $R^2 = 0,3795$ (10 mg L⁻¹) e $R^2 = 0,9175$ (5 mg L⁻¹). Percebe-se que no biorreator contendo fenol (BCF) o modelo consegue explicar melhor os valores observados com valores altos de R^2 , pois quanto maiores os valores de R^2 , melhor é o ajuste do modelo.

Os parâmetros cinéticos analisados e obtidos nesta pesquisa, de biodegradação de fenol, em especial, foram defrontados com resultados obtidos por diferentes autores em ensaios com outros procedimentos experimentais, e apesar de ser difícil de comparar estes dados, observou-se

que os valores obtidos nesta pesquisa foram da mesma ordem de grandeza que os parâmetros cinéticos encontrados por outros pesquisadores.

Hasan e Jabeen (2015) obtiveram valores experimentais para os parâmetros cinéticos através do modelo Monod (Michaelis-Menten) e outros, com espécies de *Pseudomonas* (IES-Ps-1), *Pseudomonas* (IES-S) e *Basillus* (IES-B), através de biodegradação em batelada e por meio nutriente contendo de 100 a 1050 mg L⁻¹ de fenol. Os resultados dos parâmetros cinéticos obtidos foram: *Pseudomonas* (IES-Ps-1) $r_{max} = 0,30 \text{ h}^{-1}$ e $K_s = 98,0 \text{ mg L}^{-1}$; *Pseudomonas* (IES-S) $r_{max} = 0,51 \text{ h}^{-1}$ e $K_s = 71,0 \text{ mg L}^{-1}$ e *Basillus* (IES-B) $r_{max} = 0,90 \text{ h}^{-1}$, $K_s = 92,0 \text{ mg L}^{-1}$.

Mohammed e Allayla (1997) avaliaram a biodegradação dos compostos tóxicos benzeno, tolueno e xileno em um tanque com partículas de areia, e obtiveram os seguintes valores para a velocidade de degradação, $a_v R_{mA}$, $1,21 \times 10^{-4}$; $1,07 \times 10^{-4}$ e $0,98 \times 10^{-4} \text{ mg L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para os compostos benzeno, tolueno e o-xileno, respectivamente. A constante de meia saturação, K_A , foi 30 mg L^{-1} para ambos os compostos. Observou-se, então, que os valores obtidos para a velocidade de degradação são de ordem de grandeza parecida com as dos valores obtidos para os compostos fenol e p-nitrofenol desta pesquisa.

Ribeiro (2018) comparou biorreatores de agitação mecânica, com biorreatores de agitação orbital, para diferentes concentrações iniciais de fenol: 50, 100 e 150 mg L⁻¹, utilizando carvão ativado como suporte, obtendo melhor desempenho na remoção de fenol, no reator de agitação mecânica, possivelmente devido a maior quantidade de biomassa aderida ao suporte, de $8,56 \text{ mg g}_{\text{suporte}}^{-1}$, chegando a 100 % de biodegradação do fenol em cerca de 300 minutos de reação, para o biorreator de agitação mecânica, os valores da velocidade de degradação, da concentração celular e da constante de meia saturação, obtidos experimentalmente para a concentração de 50 mg L⁻¹ foram: $0,0692 \text{ mg L}^{-1} \text{ s}^{-1}$; $12,94 \text{ mg}_{\text{SSV}} \text{ g}_{\text{suporte}}^{-1}$; $15,29 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Analisando-se os resultados obtidos pelo autor, pode-se verificar que os valores da velocidade de degradação foram semelhantes aos encontrados neste trabalho.

5 CONCLUSÕES

O reator contendo fenol apresentou melhores resultados para a biodegradação, devido a ter obtido maior quantidade de biomassa aderida no suporte, 23,24 mg g suporte⁻¹, se comparada ao biorreator contendo p-nitrofenol que apresentou 19,03 mg g suporte⁻¹ de biomassa aderida no suporte. A quantidade de biomassa presente nos biorreatores foi de 13.830 mg de SSV por grama de suporte para o fenol e 12.968 mg de SSV por grama de suporte para o p-nitrofenol.

Para o reator contendo o contaminante fenol o biofilme conseguiu degradar com 100 % de eficiência as três concentrações avaliadas (5, 10 e 15 mg L⁻¹) em 180, 240 e 420 minutos, respectivamente, tempos estes inferiores aos tempos de degradação do p-nitrofenol, que também foi 100% degradado, em 360, 480 e 600 minutos, respectivamente. Quanto maior a quantidade de micro-organismos contidos no reator, mais rápido foi o consumo do contaminante, pelo fato de sua velocidade de degradação ser maior. Observou-se que o percentual de degradação relaciona-se com a velocidade máxima de reação de cada composto; segundo o modelo cinético de Michaelis-Menten, a velocidade máxima de reação de cada composto é diretamente proporcional à velocidade de consumo do composto.

Com relação aos parâmetros cinéticos, o valor de K_A do composto fenol foi maior para as maiores concentrações estudadas, indicando maior afinidade pelo efluente de menor concentração do contaminante, no entanto, para o composto p-nitrofenol, o valor de K_A foi maior para as menores concentrações estudadas, ou seja, para o p-nitrofenol, a maior afinidade é pelo efluente contendo maior concentração do contaminante. No que tange a variável $a_v R_{mA}$, para o composto fenol, ela foi maior para a maior concentração, ou seja, nestas condições o consumo de substrato foi mais rápido, no entanto para o composto p-nitrofenol, a variável foi maior para a menor concentração do contaminante, indicando que o consumo de substrato foi mais rápido nas menores concentrações.

Avaliando-se os resultados obtidos das análises experimentais, de forma geral pode-se concluir que há eficiência no uso de biofilmes suportados em casca de ovo para remoção de contaminantes tóxicos como o fenol e o p-nitrofenol, em sistema em batelada de agitação mecânica. Sendo que o processo de formação do biofilme interfere diretamente na quantidade do recobrimento do suporte, e em consequência disso, no desempenho do material contendo biofilme utilizado na remoção dos compostos fenólicos, cabe ressaltar também que as características químicas do contaminante também interferem no processo de biodegradação. A tecnologia de biodegradação

pode ser apontada como uma tecnologia potencial para o uso no tratamento de efluentes e águas contendo compostos fenólicos.

6 RECOMENDAÇÕES

Ficam como sugestões para estudos futuros:

- Aprofundamento do estudo do biofilme identificando as bactérias e os fungos;
- Utilização de diferentes materiais como suporte;
- Identificação e quantificação dos produtos formados pela biodegradação;
- Caracterizar a casca de ovo contendo biofilme suportado desenvolvido em biorreator de agitação mecânica;
- Analisar a capacidade de biodegradação do fenol e do p-nitrofenol, por biofilme suportado em casca de ovo, em coluna de leito fixo, utilizando diferentes vazões, de efluentes sintéticos;
- Avaliar a toxicidade do efluente sintético final após tratamento em biorreatores em batelada utilizando biofilmes suportados em casca de ovo;
- Utilização de um efluente sintético multicomponente (fenol+p-nitrofenol), pois sabe-se que no efluente real existe uma mistura de compostos a serem removidos e estudar o efeito competitivo e inibitório no meio;
- Realização de testes de biodegradação com efluente real.

REFERÊNCIAS

- AGARRY, S. E.; SOLOMON, B.O. **Kinetics of batch microbial degradation of phenols by indigenous *Pseudomonas fluorescens***. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, v. 5, 2008.
- AL-ASGEH, S.; BANAT, F.; MASAD, A. Kinetics and Equilibrium Sorption Studies of 4-Nitrophenol on pyrolyzed and activated oil shale residue. **Environmental Geology**, v. 45, 2004.
- American Public Health Association, American Water Works Association Water Environment Federation. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21th ed., Washington: APHA/AWWA/ WEF, 2005.
- BANERJEE, A.; GHOSHAL, A.K. Phenol degradation by *Bacillus cereus*: pathway and kinetic modeling. **Bioresource Technol**, v. 101, n. 14, 2010.
- BARBOSA, C. S.; SANTANA, S. A. A.; BEZERRA, C. W. B.; SILVA, H. A. S. Remoção de compostos fenólicos de soluções aquosas utilizando carvão ativado preparado a partir do aguapé (*Eichhornia crassipes*): estudo cinético e de equilíbrio termodinâmico. **Química Nova**, v. 37, n. 3, 2014.
- BELTRAME, T.F.; LHAMBY, A. R.; BELTRAME, A. Efluentes, resíduos sólidos e educação ambiental: Uma discussão sobre o tema. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental Santa Maria**, v. 20, n. 1, 2016.
- BERA, S.; ROY, A. S.; MOHANTY, K. Biodegradation of phenol by a native mixed bacterial culture isolated from crude oil contaminated site. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 121, 2017.
- BERGAMASCO, R. **O uso de partículas poliméricas para adesão microbiana em tratamento biológico de resíduos**. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 1996.
- BERTIN, L.; COLAO, M. C.; RUZZI, M., FAVA, F. Performance and microbial features of a granular activated carbon packed bed biofilm reactor capable of an efficient anaerobic digestion of olive mill wastewaters. **FEMS Microbiology Ecology**. v.48, n.3, 2004.
- BERTIN, L.; DI GIOIA, D.; BARBERIO, C.; SALVADORI, L.; MARCHETTI, L.; FAVA, F. Biodegradation of polyethoxylated nonylphenols in packed-bed biofilm reactors. **Industrial and Engineering Chemistry Research**. v.46, n.21, 2007.
- BIELEFELDT, A.R.; STENSEL, H. D. Modeling competitive inhibition effects during biodegradation of BTEX mixtures. **Water Research**. v.33, n.3, 1999.
- BOUKHLIFI, F.; CHRAIBI, S.; ALAMI, M. Evaluation of the Adsorption Kinetics and Equilibrium for the Potential Removal of Phenol Using a New Biosorbent. **Journal of Environment and Earth Science**. v. 3, n.7, 2013.

BRANCO, S. B.; SILVEIRA, C.B.; CAMPOS, M.L.; GATIBONI, L.C.; MIQUELLUTI, D.J. Atributos químicos do solo e lixiviação de compostos fenólicos após adição de resíduo sólido alcalino. **Revista brasileira de Engenharia Aquícola e Ambiental**. v. 17, n. 5, 2013.

BRASIL. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. 2005.

BRASIL. **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. 2011.

BUSCA, G.; BERARDINELLI, S.; RESINI, C.; ARRIGHI, L. **Technologies for the removal of phenol from fluid streams: a short review of recent developments**. J. Hazard. Mater. 160, 2008.

CAVALCANTE, P. R. de M. **Remoção de fenol de efluentes aquosos utilizando floculação iônica**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2016.

CHRAIBI, S.; MOUSSOUT, H.; BOUKHLIFI, F.; AHLAFI, H.; ALAMI, M. Utilization of Calcined Eggshell Waste as an Adsorbent for the Removal of Phenol from Aqueous Solution. **Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences**, v. 6, 2016.

DEEB, R.A.; HU, H.-Y.; HANSON, J.R.; SCOW, K.M.; ALVAREZ-COHEN, L. Substrate interactions in BTEX and MTBE mixtures by an MTBE-degrading isolate. **Environmental Science Technology**. v.35, n.2, 2001.

DEZOTTI, M.; BASSIN, J.P.; BILA, D.M.; AZEVEDO E.B.; VALENTIM, A.C.S. **Processos e técnicas para o controle ambiental de efluentes líquidos**. v. 5. (Série Escola Piloto de Engenharia Química COPPE/UFRJ) Rio de Janeiro, E-Papers, 2008.

DUAN, W.; MENG, F.; LIN, Y.; WANG, G. Toxicological effects of phenol on four marine microalgae. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 52, 2017.

EL-NAAS, M.; AL-ZUHAIR, S.; MAKHLOUF, S. Continuous biodegradation of phenol in a spouted bed bioreactor (SBBR). **Chemical Engineering Journal**, v. 160, 2010.

FARIA, D. C.; ULSON DE SOUZA, A. A.; GUELLI, U.; SOUZA, S. M. A., Optimization of Water Networks in Industrial Processes. **Journal of Cleaner Production**. v.17, 2009.

FELSHIA, S. C.; KARTHICK, N. A.; THILAGAM, R.; CHANDRALEKHA, A.; RAGHAVARAO, K.S.M.S.; GNANAMANI, A. Efficacy of free and encapsulated *Bacillus licheniformis* strain SL10 on degradation of phenol: A comparative study of degradation kinetics. **Journal of Environmental Management**, v. 197, 2017.

GRIEM, P.; SNYDER, R.; BRESS, B. **Acute Exposure Guidelines for Selected Airborne Chemicals**, 7 ed. Washington, D.C.,USA, The National Academies Press. 2009.

GUELLI U. DE SOUZA, S.M.A.; BRANDÃO, H.L.; ULSON DE SOUZA A.A., Modeling of liquid pollutant biodegradation process in a fluidized bed reactor with biofilm. **Separation and Purification Technology**. v.60, 2008.

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, 2002.

HASAN, S. A.; JABEEN, S. Degradation kinetics and pathway of phenol by *Pseudomonas* and *Bacillus* species. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v.29, n. 1, 2015.

HELLER, L.; DE PÁDUA, V. L. **Abastecimento de água para consumo humano**. 2ª ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2010.

HUSSAIN, A.; DUBEY, S.K. Specific methanogenic activity test for anaerobic treatment of phenolic wastewater. **Desalin. Water Treat.**, v.52, 2014.

KOSE, T.E.; KIVANC, B. Adsorption of phosphate from aqueous solutions using calcined waste eggshell. **Chemical Engineering Journal**, n.178, 2011.

LITTLEJOHNS, J. V.; DAUGULIS, A.J. Kinetics and Interactions of BTEX Compounds during Degradation by a Bacterial Consortium. **Process Biochemistry**. v.43, n.10, 2008.

LIU, Z.; YANG, C.; QIAO, C. **Biodegradation of p-nitrophenol and 4-chlorophenol by *Stenotrophomonas sp.*** FEMS Microbiol. Lett. 277, 2007.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; LEWIS FARR, A.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, 1951.

LUENLOI, T.; CHALERMISINSUWAN, B.; SREETHWONG, T.; HINCHIRANAN, N. **Photodegradation of phenol catalyzed by TiO₂ coated on acrylic sheets: kinetics and factorial design analysis**. Desalination. 274, 2011.

LUZ, A. D.; GUELLI ULSON DE SOUZA, S. M. A.; LUZ, C.; MELLO, J. M. M.; ULSON DE SOUZA, A. A. **Analysis of competition between multicomponent btx compounds for the active site of adsorption in a fixed-bed column**. Industrial and Engineering Chemistry Research. 2013.

MARTINS, C.R.; LOPES, W.A.; ANDRATE, J.B. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**. V. 36, n. 8, 2013.

MASSALHA, N.; BASHERR, S.; SABBAH, I. Effect of adsorption and bead size of immobilized biomass on the rate of biodegradation of phenol at high concentration levels. **Industrial and Engineering Chemical Research**. v.46, n.21, 2007.

MELLO, J. M. M. de. **Biodegradação dos compostos BTEX em um reator com biofilme**. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química – UFSC, Florianópolis, 2007.

MOCE, S.; MATA-ALVAREZ, J.R., Utilization of SBR technology for wastewater treatment: an overview. **Industrial and Engineering Chemistry Research**. v.41, n.23, 2002.

MOHAMMED, N.; ALLAYLA, R. I. Modeling transport and biodegradation of BTX compounds in saturated sandy soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 54, n. 3,1997.

MOLLAEI, M.; ABDOLLAHPOURA, S.; ATASHGAHI, S.; ABBASI, H.; MASOOMI, F.; RADA, I.; LOTFI, A.S.; ZAHIRI, H.S.; VALI, H.; NOGHABI, K.A. Enhanced phenol degradation by *Pseudomonas sp.* Sa01: gaining insight into the novel single and hybrid immobilizations. **J Hazard Mater.**, v.175, 2010.

NORMA TÉCNICA INTERNA SABESP. **SABESP NTS 013**: Sólidos – Método de Ensaio – Revisão 1. São Paulo, 1999.

ORTEGA, F.S.; ROCHA, R.M.; ZAIAT, M.; PANDOLFELLI, V.C. Aplicação de espumas cerâmicas produzidas via gelcasting em biorreator para tratamento anaeróbio de águas residuárias. **Cerâmica**, v. 47, n. 304, 2001.

PASSOS, C. T.; BURKET, J. F. M.; KALI, S.J.; BURKET, C. A. V. Biodegradação de fenol por uma nova linhagem de *Aspergillus sp.* isolada de um solo contaminado do sul do Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 4, 2009.

PETTINATO, M.; CHAKRABORTY, S.; ARAFAT, H. A.; CALABRO', V. Eggshell: A green adsorbent for heavy metal removal in an MBR system. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2015.

PRADEEP, N. V.; ANUPAMA, S.; NAVYA, K.; SHALINI, H. N.; IDRIS, M; HAMPANNAVAR, U.S. Biological removal of phenol from wastewaters: a mini review. **Appl Water Sci**, v. 5, 2015.

PRPICH, G.P.; DAUGULIS, A.J., Enhanced biodegradation of phenol by microbial consortium in a solid-liquid two-phase partitioning bioreactor. **Biodegradation**. v.16, n.4, 2005.

RIBEIRO, H. B. **Remoção de fenol de efluente sintético com biofilme suportado em carvão ativado: estudo em batelada e em leito fixo**. Dissertação de Mestrado – Programa De Pós-Graduação Em Ciência E Tecnologia Ambiental – UFFS, Erechim, 2018.

RIPA, M.S.; MAHMOOD, R.; KHAN, S. E KHAN, E.A. Adsorption of Phenol from Aqueous Solution Using Activated Carbon prepared from Coconut Shell. **Journal of Chemical Engineering**, v. 29, n. 1, p. 9-13, 2017.

SANTOS, V.L.; LINARDI, V.R. Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents – identification and degradation potential. **Process biochemistry**, 2013.

SLIMANI, R.; OUAHABI, I. E.; ABIDI, F.; HADDAD, M. E. Calcined eggshells as a new biosorbent to remove basic dye from aqueous solutions: Thermodynamics, kinetics, isotherms and error analysis. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 45, 2014.

SIVASUBRAMANIAN, S.; NAMASIVAYAM, S. K. R. Phenol degradation studies using microbial consortium isolated from environmental sources. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 3, 2015.

STADELMAN W.J. **Eggs and Egg Products**. In: Francis, Encyclopedia of Food Science and Technology, 2 ed. John Wiley & Sons, New York, 2000.

ULSON DE SOUZA, A. A.; BRANDÃO, H. L.; ZAMPORLINI, I. M.; SOARES, H. M.; GUELLI U. SOUZA, S. M. A. Application of a fluidized bed bioreactor for COD reduction in the textile industry effluents. **Resources, Conservation and Recycling**. v.52, n.3, 2008.

ULSON DE SOUZA, A. A.; FORGIARINI, E.; BRANDÃO, H. L.; XAVIER, M. F.; PESSOA, F. L. P.; GUELLI U. SOUZA, S. M. A. Application of Water Source Diagram (WSD) Method for the Reduction of Water Consumption in Petroleum Refineries. **Resources, Conservation and Recycling**. v.53, n.3, 2009.

USEPA - U.S. Environmental Protection Agency. **Summary Review of the Health Effects Associated with Phenol: Health Issue Assessment**. Washington, D.C.: Office of Research and Development; p. 1. EPA/600/8-86/003F. Jan. 1986.

USEPA - U. S. Environmental Protection Agency. **Toxicological review of phenol (CAS No. 108-95-2)**. In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS), Report EPA/635/R-02/006, Washington D.C. Sept. 2002.

VÉLEZ-LEE, A. E; CORDOVA-LOZANO, F; BANDALA, E. R.; SANCHEZ-SALAS, J. L. **Cloning and expression of vgb gene in Bacillus cereus, improve phenol and p-nitrophenol biodegradation Physics and Chemistry of the Earth**, 2015.

VOICE, T.C.; PAK, D.; ZHAO, X.; SHI, J.; HICHEY, R. F. Biological activated carbon in fluidized bed reactors for the treatment of groundwater contaminated with volatile aromatic hydrocarbons. **Water Research**. v.26, n.10, 1992.

WANG, S.-J.; LOH, K.-C. Growth kinetics of *Pseudomonas putida* in cometabolism of phenol and 4-chlorophenol in the presence of a conventional carbon source. **Biotechnology and Bioengineering**. v.68, n.4, 2000.

XAVIER, J.B.; PICIOREANU, C.; ALMEIDA, J.S.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes. **Boletim de Biotecnologia**. v.76, 2003.

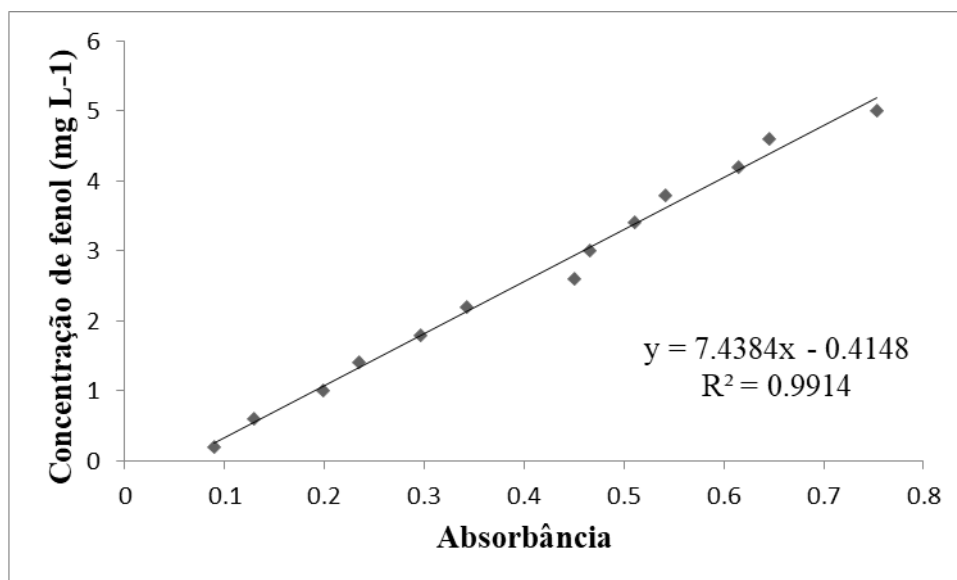
YANG, R. D.; HUMPHREY, A E. Dynamic and steady state studies of phenol biodegradation in pure and mixed cultures. **Biotechnology and bioengineering**. v. XVII, 1975.

APÊNDICE A

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANÁLISE DE FENOL

A curva de calibração para análise de fenol foi desenvolvida através do método fotométrico de acordo com a metodologia apresentada no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1995).

Figura A.1 – Curva padrão de calibração para obtenção das concentrações de fenol nas amostras de água residuária sintética.

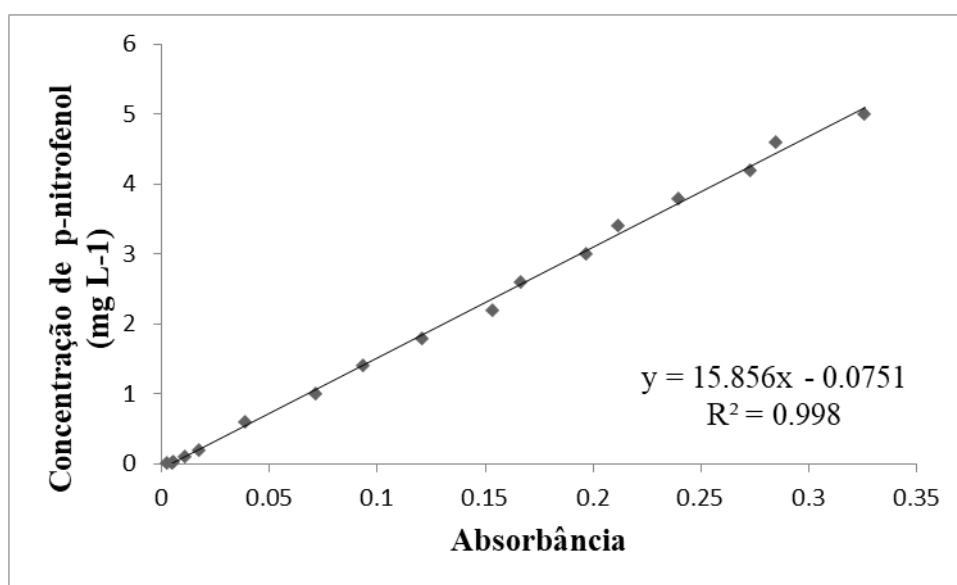


APÊNDICE B

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANÁLISE DE P-NITROFENOL

A curva de calibração para análise de p-nitrofenol foi desenvolvida através do método fotométrico de acordo com a metodologia apresentada em Al-Asgeh *et al.*, (2004).

Figura B.1 – Curva padrão de calibração para obtenção das concentrações de p-nitrofenol nas amostras de água residuária sintética.

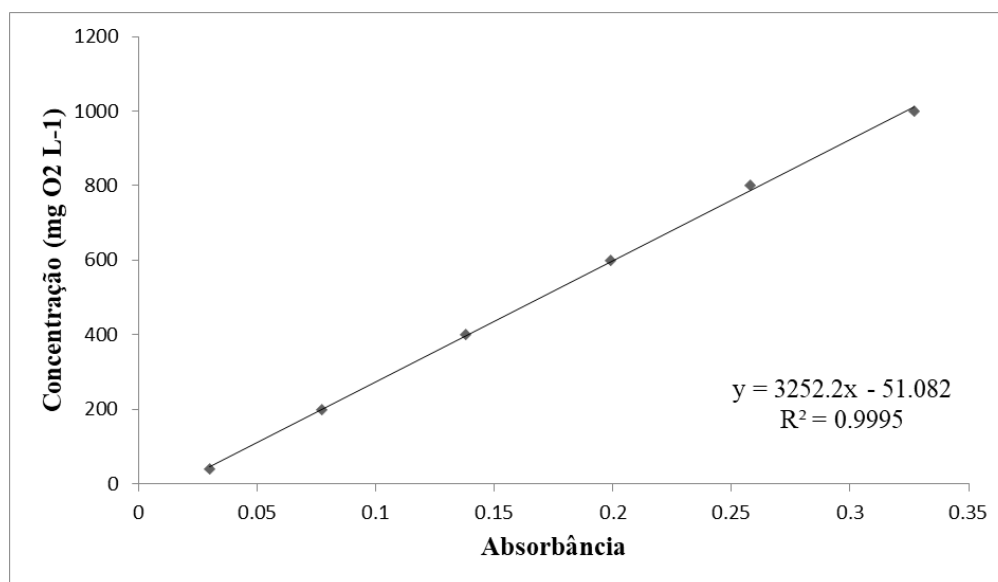


APÊNDICE C

DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO – DQO

A análise de DQO – Demanda Química de Oxigênio foi realizada por meio do Método Colorimétrico - Refluxo Fechado, seguindo a metodologia proposta por (APHA, 2005) Norma 5220 D, sendo que a absorbância foi determinada em espectrofotômetro em comprimento de onda $\lambda = 600$ nm.

Figura C.1 – Curva de padrão de calibração para obtenção das concentrações de DQO nas amostras de água residuária sintética.



APÊNDICE D

DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DA PROTEÍNA – BIOMASSA

D.1 Dosagem de proteínas – Método de Lowry

A quantificação da biomassa existente nos biorreatores foi realizada por meio da análise de proteínas, utilizando o Método de Lowry, conforme metodologia, descrita por Lowry *et al.*, 1951.

Os Reativos utilizados foram:

- Reativo A: 2 g de Na_2CO_3 seco + 0,02 g de tartarato duplo de sódio e potássio em 100 mL de NaOH 0,1 N.

- Reativo B: 0,5 g de CuSO_4 + 2 gotas de H_2SO_4 concentrado em 100 mL de água destilada.

- Solução C: 50 mL do reativo A + 1 mL do reativo B. Preparar imediatamente antes da dosagem.

- Reativo de Folin: Solução 1 N, conservar ao abrigo da luz.

- Solução Padrão de Soro Albumina Bovina (BSA) 100 mg L^{-1} : Para preparar misturar 10 mg BSA, previamente pesado, em 100 mL de água destilada. A água deionizada foi adicionada cuidadosamente no balão volumétrico para evitar a formação de bolhas. A solução foi conservada sob refrigeração (não agitar).

D.2 Procedimento experimental

D.2.1 Em Suspensão

Extração de Proteínas com NaOH 1 N a 80 °C.

Em tubos de ensaio de 15 mL, com tampa, colocar 5 mL de solução padrão de BSA ou de amostra, 5 mL de NaOH 1 N. Agitar por 5 minutos com agitador de tubos em vortex e recobrir com papel alumínio, deixar em banho-maria a 80 °C por 30 minutos. Agitar com agitador de vortex.

D.2.2 Curva Padrão

Preparar uma série de amostras de 10 a 100 mL L⁻¹ de BSA. A partir da solução a 100 mg de BSA L⁻¹, conforme indicado na Tabela D.1.

Tabela D.1 – Diluições da Albumina Bovina (BSA) para preparação da curva de calibração.

| BSA (mg L ⁻¹) | V BSA (mL) | V NaOH (mL) |
|---------------------------|------------|-------------|
| 0 | 0,0 | 1,0 |
| 10 | 0,1 | 0,9 |
| 30 | 0,3 | 0,7 |
| 50 | 0,5 | 0,5 |
| 80 | 0,8 | 0,2 |
| 100 | 1,0 | 0,0 |

D.2.3 Dosagem

- 1 mL de solução de proteína a dosar.
- 3 mL de solução C. Cobrir com *parafilm*.
- Agitar por 5 minutos no com agitador de tubos em vortex e esperar por 10 minutos precisos ao abrigo da luz.
- Adicionar 0,3 mL de reativo de Folin 1 N. Cobrir com *parafilm*.
- Agitar por 5 minutos no com agitador de tubos em vortex, deixar em repouso por 30 minutos ao abrigo da luz.
- Efetuar a medida após os 30 minutos num comprimento de onda de 760 nm.

D.2.4 No suporte

Pesar certo número de suporte seco.

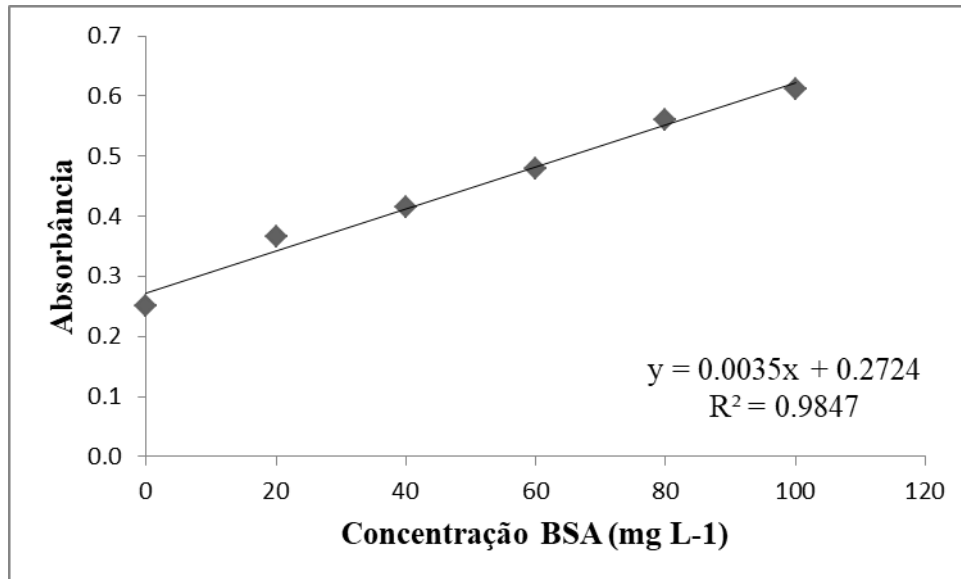
Extrair as proteínas com NaOH 1 N a 80 °C:

- Adicionar 5 mL de NaOH 1 N.
- Agitar por 5 minutos com agitador de tubos em vortex e recobrir com papel alumínio, deixar em banho Maria a 80 °C por 30 minutos. Após agitar novamente com agitador de tubos em vortex por 5 minutos.

D.3 Curva de calibração da albumina bovina

A Figura D.1 apresenta a curva de calibração da albumina bovina (BSA) que foi utilizada para determinação dos valores de biomassa na dosagem de proteínas.

Figura D.1 – Gráfico de calibração da albumina bovina para obtenção das quantidades de proteína.



D.5 Resultados da análise de proteínas

A quantidade de proteínas por grama de suporte é obtida através da Equação D. 01, que considera a quantidade de proteína por litro obtida multiplicada pelo volume utilizado da amostra (50 mL = 0,0005 L) e seu resultado divide-se pela massa de partículas secas contendo o biofilme de onde foram extraídas as proteínas da biomassa aderida.

$$\text{Proteína (mg } g_{\text{suporte}}^{-1}) = \frac{\text{Proteína (mg L}^{-1}) * 0,005 \text{ L}}{\text{Massa da Partícula Seca (} g_{\text{suporte}})} \quad (\text{D. 01})$$

Os valores obtidos das quantidades de proteína presentes na biomassa, em mg.L-1, e as quantidades de casca de ovo utilizadas nos biorreatores contendo fenol e biorreatores contendo p-

nitrofenol para extração dos conteúdos protéicos, obtidos pela média das triplicatas, são apresentados na Tabela D.2.

Tabela D.2 – Resultados obtidos das quantidades de proteína, em mg L^{-1} , para o biorreator contendo fenol (BCF) e para o biorreator contendo p-nitrofenol (BCP).

| Parâmetro/Amostras | BCF | BCP |
|---|----------|----------|
| Massa da Partícula Seca ^a (g) | 0,60 | 0,59 |
| Concentração Proteína aderida ao suporte (mg L^{-1}) | 2.788,57 | 2.245,71 |
| Proteína ($\text{mg g}_{\text{suporte}}^{-1}$) | 23,24 | 19,03 |
| Proteína em suspensão (mg L^{-1}) | 0,46 | 2,17 |

^a Massa da partícula seca (casca de ovo mais biofilme) em gramas.

D.6 Cálculos para obtenção dos Sólidos em Suspensão Total, Fixos e Voláteis

Através da Norma Técnica Interna SABESP NTS 013 (1999), pode-se realizar as análises dos sólidos em suspensos totais, sólidos suspensos fixos e sólidos suspensos voláteis.

D.6.1 Preparação do cadinho

Para cada análise de sólidos do sobrenadante dos biorreatores contendo fenol (BCF) e biorreatores contendo p-nitrofenol (BCP) foram utilizados três cadinhos comuns em triplicata. Foi colocado o papel filtro no cadinho e filtrada uma pequena porção de água destilada até a aderência do papel filtro no cadinho. Colocou-se em estufa ($105 \pm 2^\circ\text{C}$) pôr 15 minutos, e em seguida foi levado ao forno mufla ($550 \pm 50^\circ\text{C}$) pôr 30 minutos. Resfriou-se os cadinhos em dessecador até temperatura ambiente. Em seguida foram pesadas (P_1)(em g).

D.6.2 Filtração e secagem da amostra

A amostra foi homogeneizada em béquer de 400 mL com o auxílio de um bastão de vidro e filtrada em filtro de Büchner com filtro previamente pesado e seco em estufa. A filtragem de 20

mL, medidos com o auxílio de proveta, da amostra que foi realizada em triplicata através do sistema para filtração a vácuo, com os papéis filtros previamente pesados e secos em estufa ($105 \pm 2^\circ\text{C}$) até peso constante. Após foram resfriados em dessecador até temperatura ambiente. Em seguida foram pesadas (P_2)(em g).

D.6.3 Calcinação da amostra

Após filtragem das amostras os papéis filtro foram colocados nos cadinhos, previamente calcinados e pesados. O cadinho + papel filtro + resíduos da secagem foram para calcinação em forno-mufla ($550 \pm 50^\circ\text{C}$) por 30 minutos. Cada papel filtro (*quanta*) possui seu teor de cinza residual (TCR) conhecido de 0,00009 g. Na sequência, os cadinhos foram transferidos para dessecador até atingirem temperatura ambiente. Em seguida foram pesadas (P_3)(em g).

D.6.4 Cálculos

$$\text{Sólidos em Suspensão Totais (SST)} = \frac{P_2 - P_1}{\text{vol. am.}} \times 1.000.000$$

$$\text{Sólidos em Suspensos Fixos (SSF)} = \frac{P_3 - P_1}{\text{vol. am.}} \times 1.000.000$$

$$\text{Sólidos em Suspensão Voláteis (SSV)} \Rightarrow \text{SSV} = \text{SST} - \text{SSF}$$

Em que:

P_1 = Tara do cadinho (g)

P_2 = Cadinho com amostra após filtragem e secagem (g)

P_3 = Cadinho com amostra após calcinação (g)

vol. am. = Volume da amostra (mL)

Expressão dos resultados em mg L^{-1} .

D.6.4.1 Análise dos sólidos do biorreator contendo fenol (BCF)

Análise de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV)

Volume da Amostra = 20 mL

Tabela D.3 – Resultados obtidos experimentalmente para Sólidos Solúveis Voláteis (SSV), em mg L⁻¹, para biorreator contendo fenol (BCF).

| Análise/Alíquota | Sólidos Suspensos Totais (SST) (mg L ⁻¹) (P ₂ – P ₁) | Sólidos Suspensos Fixos (SSF) (mg L ⁻¹) (P ₃ -P ₁) |
|------------------|---|---|
| I | 0,25851 | 0,30202 |
| II | 0,627942 | 0,3108 |
| III | 0,5874 | 0,34216 |
| Média | 0,5874 | 0,3108 |

Cálculos:

$$SST = \frac{0,5874 \times 1.000.000}{20 \text{ mL}} \Rightarrow SST = 29.370 \text{ mg L}^{-1}$$

$$SSF = \frac{0,3108 \times 1.000.000}{20 \text{ mL}} \Rightarrow SSF = 15.540 \text{ mg L}^{-1}$$

$$SSV = 29.370 \text{ mg L}^{-1} - 15.540 \text{ mg L}^{-1} \Rightarrow SSV = 13.830 \text{ mg L}^{-1}$$

Tabela D.4 – Resultados obtidos experimentalmente para Sólidos Solúveis Totais (SST), Sólidos Solúveis Fixos (SSF) e Sólidos Solúveis Voláteis (SSV), em mg L⁻¹, para o biorreator contendo fenol (BCF).

| Análise/Alíquota | Sólidos Suspensos Totais (SST) (mg L ⁻¹) | Sólidos Suspensos Fixos (SSF) (mg L ⁻¹) | Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) (mg L ⁻¹) |
|------------------|--|---|--|
| Média | 29.370 | 15.540 | 13.830 |

D.6.4.1 Análise dos sólidos do biorreator contendo p-nitrofenol (BCP)

Análise de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV)

Volume da Amostra = 20 mL

Tabela D.5 – Resultados obtidos experimentalmente para Sólidos Solúveis Voláteis (SSV), em mg.L^{-1} , para biorreator contendo p-nitrofenol (BCP).

| Análise/Alíquota | Sólidos Suspensos Totais (SST) (mg L^{-1}) ($P_2 - P_1$) | Sólidos Suspensos Fixos (SSF) (mg L^{-1}) ($P_3 - P_1$) |
|------------------|---|--|
| I | 0,63642 | 0,34918 |
| II | 0,60754 | 0,35902 |
| III | 0,57636 | 0,3458 |
| Média | 0,60754 | 0,34918 |

Cálculos:

$$SST = \frac{0,60754 \times 1.000.000}{20 \text{ mL}} \Rightarrow SST = 30.377 \text{ mg L}^{-1}$$

$$SSF = \frac{0,34818 \times 1.000.000}{20 \text{ mL}} \Rightarrow SSF = 17.409 \text{ mg L}^{-1}$$

$$SSV = 29.370 \text{ mg L}^{-1} - 15.540 \text{ mg L}^{-1} \Rightarrow SSV = 12.968 \text{ mg L}^{-1}$$

Tabela D.6 – Resultados obtidos experimentalmente para Sólidos Solúveis Totais (SST), Sólidos Solúveis Fixos (SSF) e Sólidos Solúveis Voláteis (SSV), em mg L^{-1} , para o biorreator contendo p-nitrofenol (BCP).

| Análise/Alíquota | Sólidos Suspensos Totais (SST) (mg L^{-1}) | Sólidos Suspensos Fixos (SSF) (mg L^{-1}) | Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) (mg L^{-1}) |
|------------------|---|--|---|
| Média | 30.377 | 17.409 | 12.968 |

APÊNDICE E

PARÂMETROS CINÉTICOS

E.1 Linearização da Equação de Michaelis-Menten

A linearização, baseada nos trabalhos de Mello (2007) e Ribeiro (2018), se utiliza da equação que obedece à cinética de Michaelis-Menten que é expressa como:

$$-r = a_V R_{mA} \frac{[C_A]}{K_A + [C_A]} \quad (\text{E.1})$$

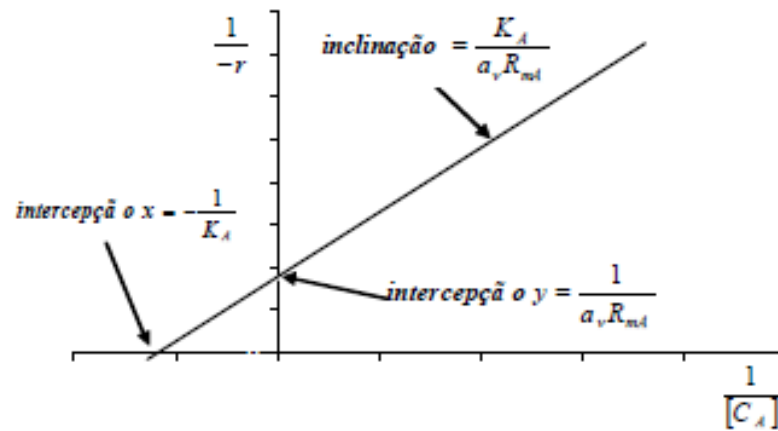
Neste modelo existem dois parâmetros a serem ajustados ao conjunto de dados experimentais: K_A e $a_V R_{mA}$. O ajuste foi obtido por uma regressão linear ($y = ax + b$), que estabelece relações com o inverso da velocidade específica $[-r^{-1}]$ com o inverso da concentração de substrato $[C_A^{-1}]$, conhecido como o gráfico de Lineweaver-Burk, em que o coeficiente angular é descrito por $\frac{K_A}{a_V R_{mA}}$ e o coeficiente linear é $\frac{1}{a_V R_{mA}}$.

A linearização da Equação (E.1), com a proposta de Hans Lineweaver e Dean Burk, a equação de Lineweaver-Burk pode ser expressa por:

$$\frac{1}{-r} = \frac{K_A}{a_V R_{mA}} \frac{1}{[C_A]} + \frac{1}{a_V R_{mA}} \quad (\text{E.2})$$

Transformando-se os pares de valores ($[C_A]$, $-r$), em pares de valores $\left(\frac{1}{[C_A]}, \frac{1}{-r}\right)$, e traçando um gráfico $\frac{1}{-r}$ em função de $\frac{1}{[C_A]}$, como apresentado na Figura (E.1). O coeficiente angular é $\frac{K_A}{a_V R_{mA}}$, a expressão $\frac{1}{a_V R_{mA}}$ é o valor da ordenada na origem e $\frac{-1}{K_A}$ é o valor da abscissa na origem.

Figura E.1 – Gráfico de Lineweaver-Burk .



Fonte: MELLO, 2007.

E.2 Cinéticas de biodegradação

E.2.1 Cinética para os biorreatores contendo fenol (BCF)

Os parâmetros cinéticos (K_A e $a_V R_{m_A}$) de cada um dos experimentos para análise de biodegradabilidade do fenol, para o modelo cinético de Michaelis-Menten, foram obtidos com relação ao tempo de consumo do substrato em três diferentes concentrações iniciais de fenol, a partir da evolução temporal do consumo do composto, em termos de concentração. Os resultados obtidos estão apresentados nas Figuras E.2 a E.4.

Figura E.2 – Cinética de biodegradação do fenol com concentração inicial de 5 mg L⁻¹.

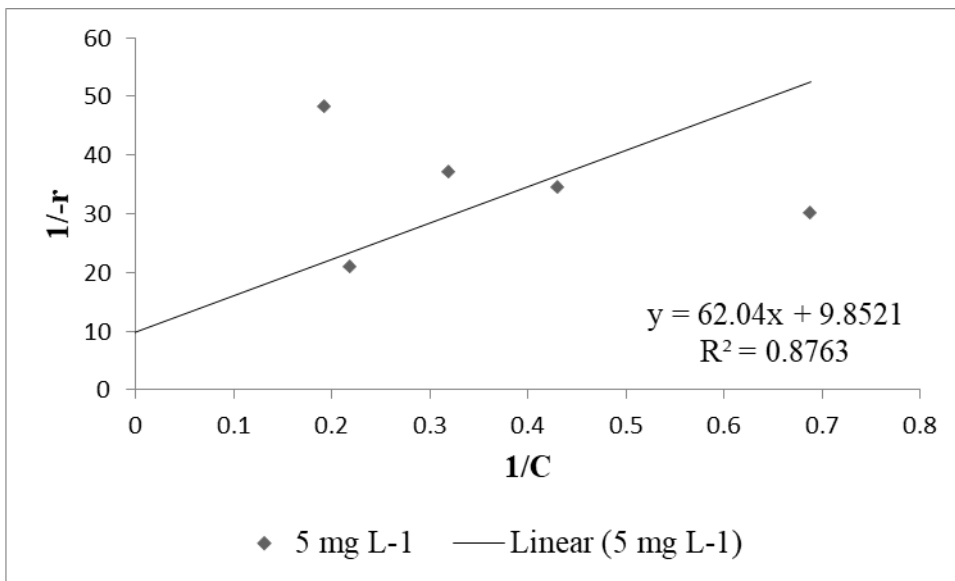


Figura E.3 – Cinética de biodegradação do fenol com concentração inicial de 10 mg L⁻¹.

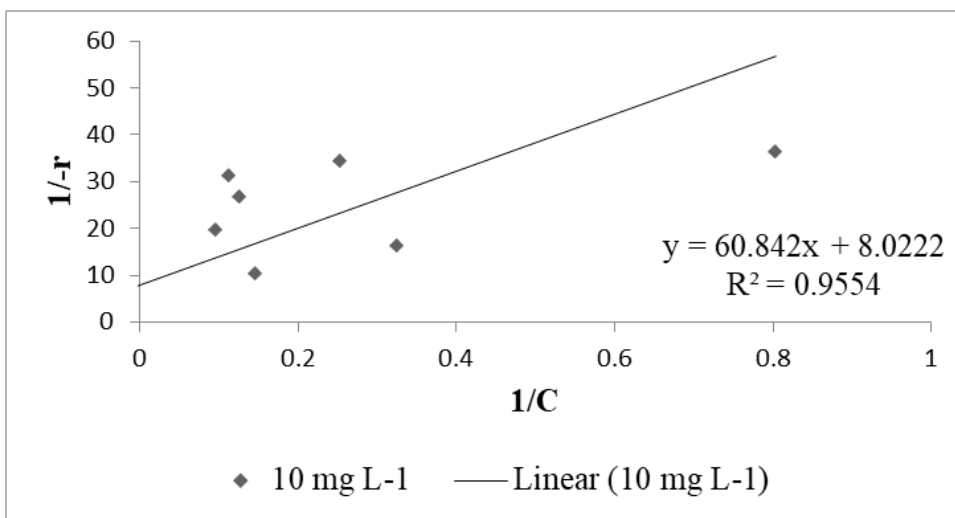
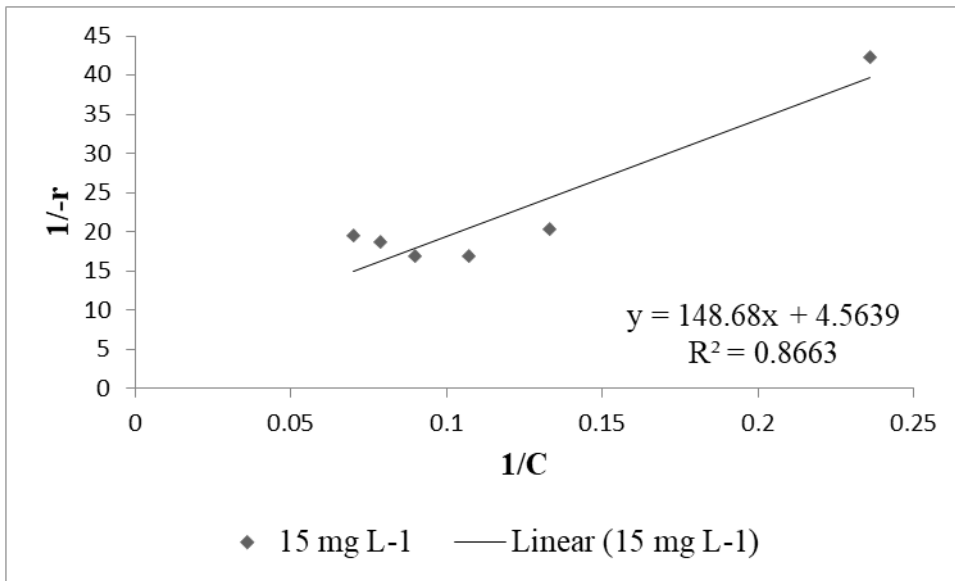


Figura E.4 – Cinética de biodegradação do fenol com concentração inicial de 5 mg L⁻¹



E.2.2 Cinética para os biorreatores contendo p-nitrofenol (BCP)

Os parâmetros cinéticos (K_A e $a_V R_{mA}$) de cada um dos experimentos para análise de biodegradação do p-nitrofenol também foram realizados, segundo o modelo cinético de Michaelis-Menten, foram obtidos com relação ao tempo de consumo do substrato em três diferentes concentrações iniciais de p-nitrofenol, a partir da evolução temporal do consumo do composto, em termos de concentração. Os resultados obtidos estão apresentados nas Figuras E.5 a E.6. Deve-se salientar que o gráfico E.6 teve um valor de R^2 abaixo do considerado bom para uma linearização, sendo assim, constata-se que para a concentração inicial de 10 mg L⁻¹ a curva não se ajustou ao modelo, por isso teve-se poucos pontos de plotagem.

Figura E.5 – Cinética de biodegradação do p-nitrofenol em concentração inicial de 5 mg L⁻¹.

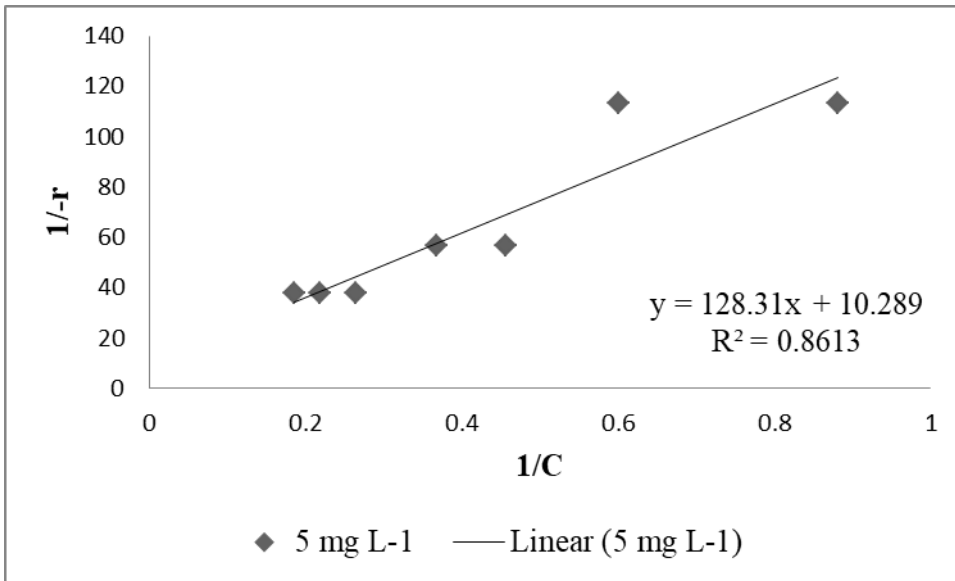


Figura E.6 – Cinética de biodegradação do p-nitrofenol com concentração inicial de 10 mg L⁻¹.

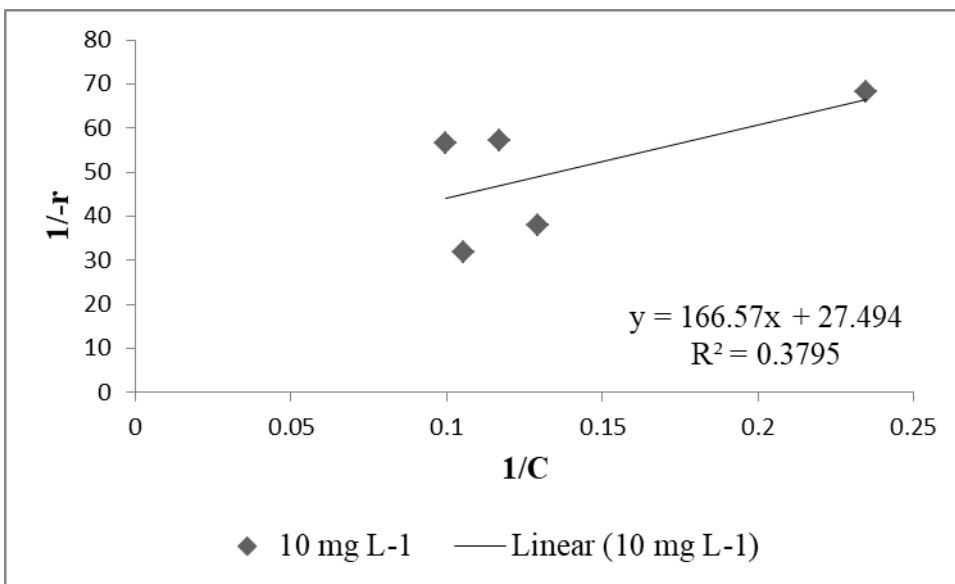
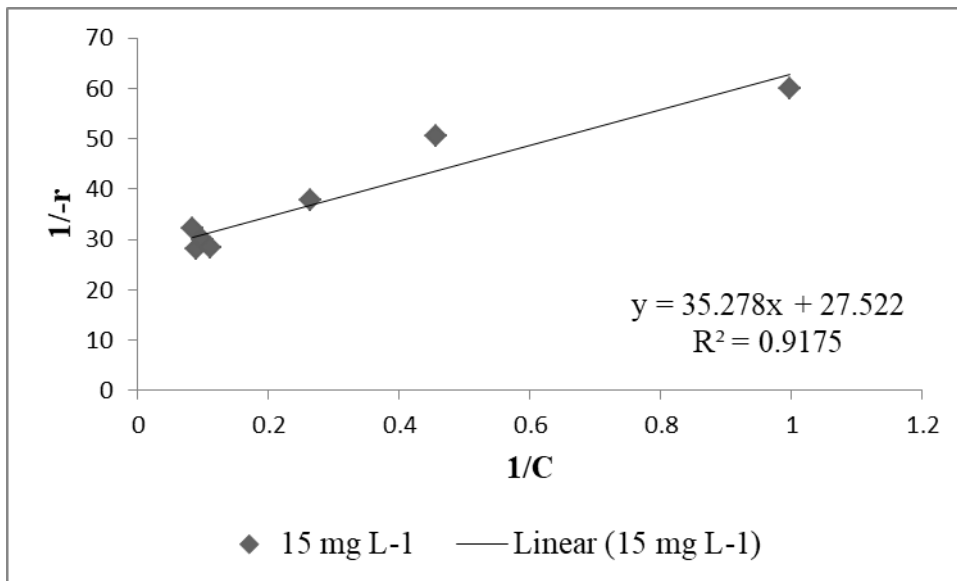


Figura E.7 – Cinética de biodegradação do p-nitrofenol com concentração inicial de 15 mg L⁻¹.



APÊNDICE F

CÁLCULOS DA VELOCIDADE DE DEGRADAÇÃO

Neste apêndice são apresentados os cálculos efetuados para converter a velocidade de degradação dos micro-organismos para os compostos fenol e p-nitrofenol considerando cada concentração adotada, para cada composto nas unidades de medida adequadas.

Os valores da velocidade de degradação do fenol e do p-nitrofenol, obtidos de forma experimental, nas análises de diferentes concentrações iniciais são mostrados nas Tabelas de F.1 a F.6 deste apêndice.

Tabela F.1 – Valores experimentais das análises das quantidades de proteína e de biomassa no biorreator contendo fenol (BCF) e no biorreator contendo p-nitrofenol (BCP).

| Parâmetro/Amostras | BCF | BCP |
|--|------------|------------|
| Massa da Partícula Seca ^a (g) | 0,60 | 0,59 |
| Concentração Proteína aderida ao suporte (mg L ⁻¹) | 2.788,57 | 2.245,71 |
| Proteína (mg g _{suporte} ⁻¹) | 23,24 | 19,03 |
| Proteína em suspensão (mg L ⁻¹) | 0,46 | 2,17 |
| Sólidos Voláteis Suspensos (SSV) (mg L ⁻¹) | 13.830 | 12.968 |

F.1. Cálculo da velocidade de degradação dos biorreatores contendo compostos fenólicos

Neste apêndice, serão apresentados os desenvolvidos dos cálculos da velocidade de degradação do biorreator contendo fenol (BCF) e o desenvolvimento da avaliação para a velocidade de degradação do biorreator contendo p-nitrofenol (BCP), é realizado seguindo o mesmo formato, sendo assim, para este último composto, os resultados são apenas apresentados nas Tabelas F.5 e F.6.

Com base nos dados da velocidade de biodegradação do fenol foram obtidos, a partir equação E.2 (Apêndice E), os valores da taxa de degradação, lembrando-se que foram utilizadas 40 g de casca de ovo em cada biorreator, os valores experimentais encontram-se na Tabela F.2.

Tabela F.2 – Valores experimentais da velocidade de degradação do fenol, para diferentes concentrações dada em $[\text{mg g}_{\text{sup}}^{-1} \text{s}^{-1}]$.

| Parâmetro | Fenol [Concentração (mg L^{-1})] | | |
|--|---|------------|------------|
| | 5 | 10 | 15 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) $[\text{mg g}_{\text{casca}}^{-1} \text{s}^{-1}]$ | 0,00004229 | 0,00005194 | 0,00009129 |

Considerou-se a massa de suporte igual a 40 g.

Para obter a relação proteínas em células, assume-se que os micro-organismos presentes no biofilme são os mesmos que estão em suspensão (MELLO, 2007). Por meio de uma amostra da solução contendo biomassa em suspensão realizou-se a análise de proteínas e Sólidos Suspensos Voláteis (SSV), obteve-se a relação de 2.788,5 mg de proteína L^{-1} para 13.830 mg de células L^{-1} . Os valores experimentais da velocidade de degradação foram obtidos da equação E.2 (Apêndice E).

De acordo com Bertin *et al.* (2004), é possível calcular a quantidade de SSV L^{-1} através da seguinte relação proposta:

$$\begin{aligned} 2.788,5 \text{ mg de proteína } \text{L}^{-1} &\quad \rightarrow \quad 13.830 \text{ mg de células } \text{L}^{-1} \\ 23,24 \text{ mg de proteína } \text{g}^{-1} \text{ suporte} &\quad \rightarrow \quad \mathbf{X} \text{ mg de células } \text{g}^{-1} \text{ de suporte} \end{aligned}$$

Então,
$$\mathbf{X} = 115,25 \text{ mg de células } (\text{g de suporte})^{-1}$$

Dividindo-se a velocidade de degradação do fenol, com concentrações iniciais de 5 mg L^{-1} , 10 mg L^{-1} e 15 mg L^{-1} , respectivamente, pela concentração de células é possível obter-se a massa degradada de SSV, em mg s^{-1} :

$$(9,1296 \times 10^{-5}) \times \frac{\text{mg}}{\text{g de suporte segundo}} \times \frac{\text{g de suporte}}{115,25 \text{ mg de células}} = 7,9216 \times 10^{-7} \text{ mg } (\text{mg}_{\text{SSV}} \text{ s})^{-1}$$

$$(5,1904 \times 10^{-5}) \times \frac{\text{mg}}{\text{g de suporte segundo}} \times \frac{\text{g de suporte}}{115,25 \text{ mg de células}} = 4,5068 \times 10^{-7} \text{ mg } (\text{mg}_{\text{SSV}} \text{ s})^{-1}$$

$$(4,2292 \times 10^{-5}) \times \frac{mg}{g \text{ de suporte segundo}} \times \frac{g \text{ de suporte}}{115,25 \text{ mg de células}} = 3,6696 \times 10^{-7} \text{ mg } (mg_{SSV} \text{ s})^{-1}$$

De acordo com a metodologia utilizada por Ribeiro (2018), para obter-se a velocidade de biodegradação do fenol nas unidades de $mg \text{ L}^{-1} \text{ s}^{-1}$, considerou-se o volume do reator de 1 litro ($V_{\text{reator}} = 0,001 \text{ m}^3$) e a porosidade do material de suporte para ancoragem da biomassa, onde utilizou-se casca de ovo, obtido a partir de relação entre volume de vazios e volume total considerando a porosidade da fase líquida para esta casca de ovo, considerado aqui como $\varepsilon_{\text{suporte}} = 0,53$ (obtido experimentalmente).

Tem-se então, que:

Volume de casca de ovo no reator = volume total do reator \times porosidade sólida

$$V_{\text{partículas}} = 0,001 \times (1 - 0,53) = 0,00047 \text{ m}^3$$

A densidade aparente do suporte = massa do suporte/volume total que ocupa, considerando os vazios existentes (obtido experimentalmente) é dada por:

$$\rho_{\text{suporte}} = \frac{8,59873 \text{ g}}{10 \text{ mL}} = 0,859873 \text{ g mL}^{-1} = 859,873 \text{ Kg m}^{-3}$$

A massa de casca de ovo contida no suporte é dada pela densidade aparente do suporte multiplicada pelo volume de casca de ovo no reator, ou seja:

$$m_{\text{partículas}} = 859,873 \text{ Kg m}^{-3} \times 0,00047 \text{ m}^3 = 0,40414 \text{ Kg} = 404,14 \text{ g}$$

Como a densidade do leite não varia, a massa de casca de ovo por litro de reator é sempre a mesma.

Para encontrar a quantidade de biomassa presente em um reator com capacidade de um litro, tem-se que:

$$1,0 \text{ g de suporte} \quad \rightarrow \quad 115,25 \text{ mg de células } L^{-1}$$

$$404,14 \text{ g de suporte} \quad \rightarrow \quad Y \text{ mg de células}$$

$$\text{Então,} \quad Y = 46.577,135 \text{ mg SSV } L^{-1}$$

Multiplicando-se a velocidade de degradação obtida em $mg (mg_{SSV} \text{ s})^{-1}$ pela quantidade de biomassa presente em um litro de reator, obtém-se a velocidade de degradação em $mg \text{ L}^{-1} \text{ s}^{-1}$, para concentrações iniciais de 5 mg L^{-1} , 10 mg L^{-1} e 15 mg L^{-1} , respectivamente,

$$46.577,135 \text{ mg SSV } L^{-1} \times 7,9216 \times 10^{-7} \text{ mg } (mg_{SSV} \text{ s})^{-1} = 0,03684 \text{ mg L}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$46.577,135 \text{ mg SSV } L^{-1} \times 4,5068 \times 10^{-7} \text{ mg } (mg_{SSV} \text{ s})^{-1} = 0,02099 \text{ mg L}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$46.577,135 \text{ mg SSV L}^{-1} \times 3,6696 \times 10^{-7} \text{ mg (mg}_{\text{SSV}} \text{ s)}^{-1} = 0,01709 \text{ mg L}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

Na Tabela F.3 são apresentados os valores da velocidade de degradação, da concentração celular e da constante de meia saturação utilizados nas simulações do fenol nas diferentes concentrações utilizadas no biorreator.

Tabela F.3– Valores da Velocidade de degradação [$\text{mg L}^{-1} \text{ s}^{-1}$] e da concentração celular em [$\text{mg}_{\text{SSV}} \text{ L}^{-1}$] e da constante de meia saturação [mg L^{-1}] para o biorreator contendo fenol.

| Parâmetro | Fenol [Concentração (mg L^{-1})] ^a | | |
|--|--|----------|----------|
| | 5 | 10 | 15 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [$\text{mg L}^{-1} \text{ s}^{-1}$] | 0,01709 | 0,02099 | 0,03684 |
| Concentração celular (X) ^a [$\text{mg}_{\text{SSV}} \text{ L}^{-1}$] | 46.577,1 | 46.577,1 | 46.577,1 |
| Constante de meia saturação (K_A) [mg L^{-1}] | 6,297 | 7,584 | 32,577 |

^a A concentração celular foi mantida nos biorreatores e durante a cinética e foram variando as concentrações iniciais de fenol em 5 mg L^{-1} , 10 mg L^{-1} e 15 mg L^{-1} , respectivamente, em cada análise.

Na Tabela F.4 são apresentados todos os resultados obtidos para o fenol, tais como velocidade de degradação, concentração celular e constante de meia saturação experimentais, para diferentes concentrações.

Tabela F.4 – Valores da velocidade de degradação, concentração celular e constante de meia saturação experimentais dos biorreatores contendo fenol, para diferentes concentrações.

| Parâmetro | Fenol [Concentração (mg L^{-1})] ^a | | |
|--|--|--------------|--------------|
| | 5 | 10 | 15 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [$\text{mg mg}_{\text{SSV}}^{-1} \text{ s}^{-1}$] | 0,0000003669 | 0,0000004507 | 0,0000007922 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [$\text{mg L}^{-1} \text{ s}^{-1}$] | 0,01709 | 0,02099 | 0,03684 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [$\text{mg g}_{\text{casca}}^{-1} \text{ s}^{-1}$] | 0,00004229 | 0,00005194 | 0,00009129 |
| Concentração celular (X) ^a [$\text{mg}_{\text{SSV}} \cdot \text{g}_{\text{suporte}}^{-1}$] | 115,25 | 115,25 | 115,25 |
| Concentração celular (X) ^a [$\text{mg}_{\text{SSV}} \text{ L}^{-1}$] | 46.577,1 | 46.577,1 | 46.577,1 |
| Constante de meia saturação (K_A) [mg L^{-1}] | 6,297 | 7,584 | 32,577 |

A partir dos valores obtidos através dos parâmetros cinéticos e da velocidade de biodegradação do p-nitrofenol, assumiu-se novamente que, para a determinação do conteúdo protéico nas células do biofilme produzido nos biorreatores, de acordo com Mello (2007), que os micro-organismos presentes no biofilme são os mesmos que estão em suspensão. Foi coletada uma amostra do sobrenadante, em cada biorreator, contendo biomassa em suspensão e foram realizadas análises de proteínas e Sólidos Suspensos Voláteis (SSV), conseguindo-se a proporção de 2.245,71 mg de proteínas L⁻¹ para 12.968 mg de células L⁻¹.

Deste modo, a continuação dos cálculos segue de maneira idêntica aos valores obtidos para o biorreator contendo fenol. Sendo assim, na Tabela F.5 são apresentados os resultados obtidos para os cálculos da velocidade de degradação, da concentração celular e da constante de meia saturação utilizados nas simulações do p-nitrofenol nas diferentes concentrações utilizadas no biorreator.

Tabela F.5 – Valores da Velocidade de degradação [mg L⁻¹ s⁻¹] e da concentração celular em [mg_{SSV} L⁻¹] e da constante de meia saturação [mg L⁻¹] para o biorreator contendo p-nitrofenol.

| Parâmetro | P-nitrofenol [Concentração (mg L ⁻¹)] ^a | | |
|--|--|-----------|-----------|
| | 5 | 10 | 15 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [mg L ⁻¹ s ⁻¹] | 0,01636 | 0,006125 | 0,006118 |
| Concentração celular (X) ^a [mg _{SSV} L ⁻¹] | 44.410,90 | 44.410,90 | 44.410,90 |
| Constante de meia saturação (K _A) [mg L ⁻¹] | 12,471 | 6,058 | 1,282 |

^a A concentração celular foi mantida nos biorreatores e durante a cinética e foram variando as concentrações iniciais de p-nitrofenol em 5 mg L⁻¹, 10 mg L⁻¹ e 15 mg L⁻¹, respectivamente, em cada análise.

Na Tabela F.6 são apresentados todos os resultados obtidos para o p-nitrofenol, tais como velocidade de degradação, concentração celular e constante de meia saturação experimentais, para diferentes concentrações.

Tabela F.6 – Valores da velocidade de degradação, concentração celular e constante de meia saturação experimentais dos biorreatores contendo p-nitrofenol, para diferentes concentrações.

| Parâmetro | P-nitrofenol [Concentração (mg L ⁻¹)] ^a | | |
|---|--|--------------|--------------|
| | 5 | 10 | 15 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [mg mg _{SSV} ⁻¹ s ⁻¹] | 0,0000003685 | 0,0000001379 | 0,0000001377 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [mg L ⁻¹ s ⁻¹] | 0,01636 | 0,006125 | 0,006118 |
| Velocidade de degradação ($a_v R_{mA}$) [mg g _{casca} ⁻¹ s ⁻¹] | 0,00004049 | 0,00001516 | 0,00001514 |
| Concentração celular (X) ^a [mg _{SSV} ·g _{suporte} ⁻¹] | 109,89 | 109,89 | 109,89 |
| Concentração celular (X) ^a [mg _{SSV} L ⁻¹] | 44.410,90 | 44.410,90 | 44.410,90 |
| Constante de meia saturação (K _A) [mg L ⁻¹] | 12,471 | 6,058 | 1,282 |

^a A concentração celular foi mantida nos biorreatores e durante a cinética em batelada, no entanto as concentrações iniciais de p-nitrofenol em 5 mg L⁻¹, 10 mg L⁻¹ e 15 mg-L⁻¹, respectivamente, foram variando.