

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E
ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA**

MUNIQUE DIAS

**BIODEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS BTEX EM REATOR
COM BIOFILME SUPOSTADO EM XISTO RETORTADO**

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutor em Engenharia Química

Orientador: Prof. Dr. Antônio Augusto Ulson de Souza

Coorientadores: Prof^a. Dr^o. Selene Maria de Arruda Guelli Ulson de Souza e Dr^a Franciélle Girardi

**FLORIANÓPOLIS
2015**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Dias, Munique

Biodegradação de Compostos BTEX em Reator com Biofilme Suportado em Xisto Retortado / Munique Dias ; orientador, Antônio Augusto Ulson de Souza ; coorientadora, Selene Maria Arruda Guelli Ulson de Souza. – Florianópolis, SC, 2015

204 p.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Inclui referência

1. Engenharia Química. Biodegradação. 3. Microorganismo. 4. BTEX. I. de Souza, Antônio Augusto Ulson. II. De Souza, Selene Maria Arruda Guelli. III. Universidade Federal de Santa Catarina.. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

Munique Dias

BIODEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS BTEX EM REATOR COM
BIOFILME SUPORTADO EM XISTO RETORTADO

Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de
“Doutorado” e aprovada em sua forma final pelo Programa Pós-
graduação em engenharia Química

Florianópolis, 6 de Março de 2015.

Prof. Dr. Ricardo Antonio Francisco Machado.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Antônio Augusto Ulson de Souza
Orientador

Prof.^a Dr.^a Selene Maria de Arruda Guelli Ulson de Souza
Coorientadora

Dr.^a Franciélle Girardi
Coorientadora

Prof.^a Dr.^a Debora de Oliveira.

Prof. Dr. José Antônio Ribeiro de Souza

Dr.^a Heloisa de Lima Brandão
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dr.^a Lorena Benathar Ballod Tavares.
Universidade Regional de Blumenau

Prof.^a Dr.^a Sandra Helena Westrupp Medeiros
Universidade da Região de Joinville

A minha vó Zulma (*in memoriam*),
por todo incentivo,
Ao meu Marido Rodrigo dos Santos,
por todo amor e paciência
Aos meus pais, Mauro e Magna,
por tudo!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois sem ele eu nada seria.

Aos professores Antônio Augusto Ulson de Souza e Selene Maria Arruda Guelli Ulson de Souza, pelos conhecimentos transmitidos e pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da UFSC, por tornar possível essa conquista.

Ao Programa de Recursos Humanos da ANP, através do PRH 09/MECPETRO, que financiou e deu todo suporte necessário para o desenvolvimento deste trabalho.

À pós-doutoranda Franciélle Girardi, por toda amizade, ajuda e por me segurar nas horas em que eu quase desmoronei.

À amiga Rafaela Bohaczuk Venturelli Knop, por sua amizade.

Aos colegas do LABSIN-LABMASSA, por tornarem esse caminho um pouco mais fácil de ser percorrido.

À Universidade Federal de Santa Catarina, por todo suporte físico.

Aos meus pais, Mauro e Magna, por todo incentivo, apoio e dedicação em todas as etapas da minha vida.

Ao meu marido Rodrigo dos Santos, por toda paciência, carinho, amor e por não me deixar desistir nas horas difíceis.

A minha irmã, pela amizade e apoio.

Aos meus grandes amigos, Fernando dos Santos, Denise Maria Lopes de Souza e Alexandre Araújo Santos Camargo Pereira, pela preocupação e companheirismo.

E a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Obrigada a todos!

*“Ninguém ignora tudo,
Ninguém sabe tudo,
Todos nós sabemos alguma coisa.
Todos nós ignoramos alguma coisa.
Por isso aprendemos sempre”*

(Paulo Freire)

RESUMO

Compostos orgânicos voláteis (COV), em especial os compostos BTEX, benzeno (B), tolueno (T), etilbenzeno (E) e xilenos (X), pela elevada toxicidade, são nocivos ao ambiente e aos organismos vivos, fazendo com que internacionalmente as normas ambientais se tornem muito rígidas. Consequentemente há uma necessidade urgente para o desenvolvimento de metodologias que sejam capazes de minimizar ou eliminar o efeito nocivo destes compostos. Neste trabalho estudou-se primeiramente o processo de adsorção dos compostos BTEX em xisto retornado, submetidos a diferentes tipos de tratamento com o objetivo de aumentar a capacidade de adsorção do xisto, que foram: tratamento ácido, básico, térmico e tratamento com diferentes surfactantes. O único tratamento que se mostrou eficiente foi o tratamento ácido, utilizando o ácido acético, o qual aumentou a capacidade de adsorção do xisto em aproximadamente 35% em relação ao xisto sem tratamento. Foram realizadas as cinéticas de adsorção determinando-se que o melhor modelo de ajuste dos dados experimentais foi o de pseudo-primeira ordem, apresentando coeficiente de correlação entre 0,90 – 0,98, para os quatro compostos. Através das isotermas de adsorção obtidas, foi possível conhecer a capacidade máxima de adsorção (q_{max}) do xisto retornado para cada composto orgânico, que decresce na seguinte ordem $T > B > E > X$, com valores de $11,482 > 10,209 > 8,407 > 7,685$ mg/g, respectivamente. A fim de aumentar o desempenho na remoção dos compostos BTEX do efluente, estudou-se o processo de biodegradação desses compostos individuais e em mistura, para o processo em batelada, utilizando-se biofilmes suportados em partículas de xisto. Os resultados obtidos demonstram que o biofilme é capaz de biodegradar completamente os quatro compostos orgânicos, individualmente e em misturas binárias, ternárias e quaternárias. Na identificação dos micro-organismos presentes no lodo *in natura* e após a adaptação ao BTEX, através de sequenciamento de DNA, observou-se uma mudança nos gêneros presentes nas amostras *in natura*, apresentando maior quantidade do gênero *Clostridium* e *Pseudomonas*, enquanto que nos micro-organismos adaptados o gênero em maior abundância foi o *Comamonas*. Dentro desse gênero, a espécie encontrada em maior abundância foi a *Comamonas testosteroni*. No presente trabalho é utilizado um modelo de uma única equação para descrever o perfil de concentração dos compostos BTEX ao longo de um biorreator com biofilme em leito fixo. A equação utilizada no modelo é discretizada utilizando o método de volumes finitos. O estudo utiliza um modelo

computacional desenvolvido em linguagem MATLAB para a simulação de diferentes parâmetros do processo a fim de prever a remoção dos compostos BTEX. Os parâmetros estudados foram: concentração de alimentação dos compostos, vazão de alimentação e área do biorreator. Os resultados das simulações mostraram que todos os parâmetros avaliados influenciam a biodegradação dos compostos BTEX, e que o modelo matemático e a metodologia numérica podem ser usados como uma ferramenta para prever o comportamento dinâmico e estacionário do processo de biodegradação em colunas de leito fixo.

Palavras chave: Xisto. Adsorção. Adsorvente. Biodegradação. Microorganismos.

ABSTRACT

Volatile organic compounds (VOCs), especially benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes (BTEX), have high toxicity and are environmentally harmful and to living organisms, causing international environmental laws very rigid. Consequently, there is an urgent need for the development of methodologies that are able to minimize or eliminate the harmful effects. In this work, the process of adsorption of BTEX was studied, undergoing different types of treatment in order to increase the adsorption capacity of the adsorbent, which were acid treatment, basic treatment, and thermal treatment with different surfactants. The unique treatment that has proved to be efficient was the acid treatment using acetic acid, which increased the adsorption capacity by approximately 35 % compared to untreated adsorbent. Adsorption kinetics were performed and the best fit model of experimental data is the pseudo-first order model, with correlation coefficient of 0.90 to 0.98 for the four compounds. Using the adsorption isotherms, it was possible to know the maximum adsorption capacity (q_{max}) for each organic compound that decreases in the order $T > B > E > X$, with values of $11,482 > 10,209 > 8,407 > 7,685$ mg/g, respectively. In order to increase the performance of the removal of effluent BTEX compounds, we studied the process of biodegradation of these compounds, individually and in binary, ternary or quaternary mixtures to the batch process, using the biofilms supported in shale particles. The results demonstrated that the biofilm is able to completely biodegrade the four organic compounds, individually and in binary, ternary or quaternary mixtures. The identification of microorganisms in the sludge *in natura* and after adaptation to BTEX, through DNA sequencing, there was a change in genres present in fresh samples, showing *Clostridium* and *Pseudomonas*, while in microorganisms adapted the gender in greater abundance was the *Comamonas*. In this gender, the kind found in most an abundance was *Comamonas testosteroni*. In this work, we used a model of a single equation to describe the concentration profile of the BTEX compounds over a bioreactor with biofilm fixed bed. The equation used in the model

is discretized using the finite volume method. The study uses a computer model developed for the MATLAB simulation of different process parameters to provide the efficiency of removal of BTEX compounds. The parameters studied were the feed concentration of the compounds, the feed flow and the bioreactor area. The simulation results showed that all parameters influenced the biodegradation of BTEX compounds, and the mathematical model and the numerical method can be used as a tool to predict the dynamic and stationary behavior of the biodegradation process.

Keywords: Shale. Adsorption. Adsorbent. Biodegradation. Microorganisms.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|-----|
| Figura 1. Estrutura dos poros de um material adsorvente genérico..... | 45 |
| Figura 2. Diagrama esquemático do processo do xisto | 48 |
| Figura 3. Isotermas de adsorção segundo a classificação de Brunauer <i>et al.</i> (1938)..... | 51 |
| Figura 4. Etapas envolvidas na remoção de poluentes orgânicos da fase aquosa (a), e na biodegradação, pela via aeróbia, das substâncias assimiladas pelas células bacterianas (b)..... | 56 |
| Figura 5. Fluxos de carbono e de elétrons na respiração aeróbia..... | 57 |
| Figura 6. Cromatógrafo gasoso GC-17A da Shimadzu..... | 76 |
| Figura 7. Fibra de SPME e suporte utilizado para análise dos compostos BTEX. | 77 |
| Figura 8. Etapas de extração e dessorção do analito na fibra de SPME para análise dos compostos BTEX em cromatógrafo gasoso (a) tempo | 78 |
| Figura 9. Cromatograma obtido utilizando a programação desenvolvida para análise dos BTEX..... | 78 |
| Figura 10. Volume de controle elementar unidimensional e seus vizinhos. | 85 |
| Figura 11. Distribuição granulométrica para o xisto retornado..... | 91 |
| Figura 12. Espectros de absorção na região do infravermelho (FTIR). 93 | |
| Figura 13. Imagens de superfície do xisto retornado in natura, com ampliação de a) X33; b) X220; c) X220; e d) X850. | 94 |
| Figura 14. Cinéticas de adsorção obtidas para o a) benzeno; b) tolueno; c) etilbenzeno; c) <i>o</i> -xileno (pH=4-5, granulometria=1-1,40 mm, T=23 °C, Co = 40 mg/L, m _{ads} = 1,0 g) | 108 |

| | |
|--|-----|
| Figura 15 Ajuste cinético de Pseudo-primeira ordem para os compostos a) tolueno; b) etilbenzeno; c) <i>o</i> -xileno e d) benzeno..... | 111 |
| Figura 16. Ajuste cinético de Pseudo-segunda ordem para os compostos a) tolueno; b) etilbenzeno; c) <i>o</i> -xileno; e d) benzeno..... | 114 |
| Figura 17. Cinética de difusão intrapartícula para o etilbenzeno. | 117 |
| Figura 18. Isoterma de adsorção do a) benzeno b) tolueno c) etilbenzeno d) <i>o</i> -xileno, experimental e ajustado para o modelo de Langmuir. | 118 |
| Figura 19. Mecanismo de adsorção proposto para os compostos BTEX em xisto –Ac. | 121 |
| Figura 22. Cinéticas de biodegradação dos compostos orgânicos monocomponentes, $C_0 = 60 \text{ mg/L}$, $T=22 \text{ }^\circ\text{C}$: a) tolueno; b) benzeno; c) <i>o</i> -xileno; d) etilbenzeno. | 131 |
| Figura 23. Cinética de biodegradação bicomponente ($C_0=60 \text{ mgL}^{-1}$) . | 134 |
| Figura 24. Cinéticas de biodegradação tricomponente ($C_0 = 60 \text{ mg/L}$) | 139 |
| Figura 25. Cinéticas de biodegradação tricomponente ($C_0 = 60 \text{ mg/L}$) | 142 |
| Figura 26. Cromatograma obtido através da injeção da matriz analisada fortificada com os compostos BTEX $1000 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ (linha preta) e a matriz isenta desses compostos (linha lilás)..... | 143 |
| Figura 27. Curvas analíticas obtidas para os compostos a) etilbenzeno, b) tolueno , c) benzeno e d) <i>o</i> -xileno..... | 144 |
| Figura 28. Perfil de Concentração dos compostos BTEX para concentração inicial de 60 mg/L e vazão de alimentação de 3 mL/s . .. | 148 |
| Figura 29. Perfil de Concentração do (a) tolueno (b) benzeno (c) etilbenzeno (d) <i>o</i> -xileno ao longo do reator para diferentes vazões e uma concentração inicial de 60 mg/L | 149 |

| | |
|--|-----|
| Figura 30. Perfil de Concentração do (a) tolueno (b) benzeno (c) etilbenzeno (d) <i>o</i> -xileno ao longo do reator para diferentes concentrações e vazão de entrada de 3mL/min. | 152 |
| Figura 31. Perfil de Concentração do (a) tolueno (b) benzeno (c) etilbenzeno (d) <i>o</i> -xileno ao longo do reator para diferentes concentrações e vazão de entrada de 3mL/min. | 154 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Teor das impurezas oleofínicas no petróleo. | 37 |
| Tabela 2. Principais derivados do petróleo e suas aplicações | 38 |
| Tabela 3. Propriedades físicas e químicas dos compostos BTEX..... | 40 |
| Tabela 4. Tipos de adsorção e suas características..... | 43 |
| Tabela 5. Micro-organismos aeróbios já estudados na degradação dos BTEX. | 60 |
| Tabela 8. Abertura das peneiras utilizadas na separação granulométrica do xisto retornado..... | 64 |
| Tabela 9. Valores da difusividade molecular dos compostos BTEX | 83 |
| Tabela 10. Os valores adotados pela ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas, para tamanhos de grãos..... | 92 |
| Tabela 11. Valores da área superficial, volume de poros e diâmetro médio de poros do xisto retornado in natura. | 95 |
| Tabela 12. Massa de Tolueno adsorvida com a variação da granulometria do adsorvente (pH = 6, T=23 °C, m _{xisto} = 1g, C _{0tolueno} = 56 mg/L)..... | 95 |
| Tabela 13. Análise ANOVA para avaliação da influência da granulometria do adsorvente sobre a capacidade de adsorção do Tolueno | 96 |
| Tabela 14. Teste de Tukey para um nível de significância de 5%. | 96 |
| Tabela 15. Massa de Tolueno adsorvida com a variação do pH inicial da solução (Tamanho da partícula = 1,00 -1,40 mm, T=23 °C, m _{xisto} = 1g, C _{0tolueno} = 56 mg/L). | 97 |
| Tabela 16. Análise ANOVA para avaliação da influência do pH sobre a capacidade de adsorção do Tolueno..... | 98 |

| | |
|---|-----|
| Tabela 17. Massa de tolueno adsorvida para o tratamento do xisto retortado com diferentes ácidos (pH 4-5, T=23 °C, m _{xisto} = 1,0 g, C _{tolueno} = 56 mg/L). | 99 |
| Tabela 18. Análise ANOVA para avaliação da influência do tratamento ácido no xisto retortado sobre a capacidade de adsorção do Tolueno..100 | |
| Tabela 19. Teste de Tukey para um nível de significância de 5% | 100 |
| Tabela 20. Massa de tolueno adsorvido por grama de adsorvente para os dois tratamentos alcalinos testados e o xisto sem tratamento (pH = 6, T=23 °C, m _{xisto} = 1,0 g, C _{tolueno} = 56 mg/L)..... | 101 |
| Tabela 21. Análise ANOVA para avaliação da influência do tratamento ácido no xisto retortado sobre a capacidade de adsorção do Tolueno..102 | |
| Tabela 22. Teste de Tukey para um nível de significância de 5 % | 102 |
| Tabela 23. Massa de tolueno adsorvida utilizando o adsorvente com diferentes tratamentos térmicos (pH = 6, T=23 °C, m _{xisto} = 1 g, C _{tolueno} = 56 mg/L). | 103 |
| Tabela 24. Análise ANOVA para avaliação da influência do tratamento térmico do adsorvente sobre a capacidade de adsorção do Tolueno.... | 103 |
| Tabela 25. Teste de Tukey para um nível de significância de 5% | 104 |
| Tabela 26. Massa de tolueno adsorvida utilizando o adsorvente com tratamento utilizando diferentes surfactantes (pH = 6, T=23 °C, m _{xisto} = 1,0 g, C _{tolueno} = 56 mg/L)..... | 105 |
| Tabela 27. Análise ANOVA para avaliação da influência do adsorvente modificado com diferentes surfactantes sobre a capacidade de adsorção do Tolueno. | 105 |
| Tabela 28. Teste de Tukey para um nível de significância de 5 % | 106 |
| Tabela 29. Quantidades de cada composto adsorvido e o tempo de equilíbrio..... | 110 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 30. Constantes das cinéticas de adsorção de Pseudo-primeira ordem obtidas para os compostos BTEX. | 113 |
| Tabela 31. Constantes das cinéticas de adsorção de Pseudo-segunda ordem obtidas para os compostos BTEX. | 116 |
| Tabela 32. Constantes do modelo cinético de difusão intrapartícula para os ensaios adsortivos dos quatro compostos orgânicos estudados. | 117 |
| Tabela 33. Parâmetros do modelo da isoterma de Langmuir para os compostos BTEX. | 120 |
| Tabela 34. Gêneros de bactérias encontrados nas amostras 1 e 2. | 122 |
| Tabela 36. Porcentagens relativas dos gêneros encontrados em ambas as amostras. | 127 |
| Tabela 38. Faixa de linearidade obtida para os compostos BTEX. | 146 |
| Tabela 39. Valores de exatidão encontrados para os compostos BTEX. | 146 |
| Tabela 40. Coeficientes médios de variação obtidos para obtenção da precisão do método utilizado para análise dos compostos BTEX. | 147 |
| Tabela 41. Limites de detecção e quantificação para análise dos compostos BTEX. | 147 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------------------|---|
| ε_{β} | Porosidade da fase fluida na macroescala |
| ε_{γ} | Porosidade da fase fluida na microescala |
| ε_{σ} | Porosidade da fase s3lida na macroescala |
| CA | Concentra33o da esp3cie qu3mica A [mg/L] |
| Co | C _o 3 a concentra33o inicial do composto [mg/L], |
| A | 3rea de se33o transversal [m ²] |
| Ai | Coefficientes da equa33o discretizada onde i = p, e, w, p' |
| BTEX | Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno |
| CA | Concentra33o da esp3cie qu3mica A [mg/L] |
| CV | Coefficiente de varia33o |
| {CA} | Concentra33o m3dia espacial da esp3cie qu3mica A, em condi33es de equil3brio m3ssico local [mg/L] |
| Ce | Concentra33o do adsorbato na solu33o em equil3brio |
| CG | Cromat3grafo gasoso |
| D | Tensor dispers3o hidrodin3mica [m ² /s] |
| D* | Tensor dispers3o total [m ² /s] |
| Daw | Difusividade molecular da esp3cie qu3mica A em 3gua [m ² /s] |
| dp | Di3metro da part3cula [m] |
| ds | Di3metro m3dio do suporte [m] |
| D $_{\beta}$ | Difusividade molecular da esp3cie qu3mica A na fase β [m ² /s] |
| h | Velocidade de adsor33o inicial [mg/g.h] |
| HMDS | Hexametildissilazana |
| K _A | Constante de meia satura33o relativo 3 esp3cie qu3mica A [mg/L] |
| K _F | Constante de Freundlich [mg/g] |
| K _L | Constante de Langmuir [L/g] |
| K ₁ | Constante na velocidade de adsor33o cin3tica de pseudo-primeira ordem |
| K ₂ | Constante na velocidade de adsor33o cin3tica de pseudo-segunda ordem |
| K _{in} | Coefficiente de transfer3ncia de massa que engloba difus3o efetiva, dimens3es e caracter3sticas f3sicas da part3cula [mg/g.(h ^{1/2})] |
| LD | Limite de detec33o |
| LQ | Limite de quantifica33o |

| | |
|------------------|--|
| n | Constante de Freundlich característica do sistema, indicador de intensidade de adsorção |
| Pe | Número de Peclet |
| Q | Vazão volumétrica [m ³ /s] |
| qe | Quantidade de adsorbato adsorvida no equilíbrio |
| qt | Quantidade adsorvida de adsorbato no tempo t e por unidade de massa do adsorvente [mg/g] |
| q _{max} | Quantidade máxima de adsorbato adsorvida por unidade de adsorvente |
| r | Vetor posição [m] |
| R _{mA} | Velocidade máxima de reação da espécie química A [mg/(L s)] |
| R _L | Parâmetro de equilíbrio de Langmuir [mg/g] |
| S | Termo fonte |
| s | Estimativa do desvio padrão do coeficiente linear |
| S | Coeficiente angular da curva analítica |
| S _{hp} | Número de Sherwood |
| SPME | Microextração em fase sólida |
| Sc | Número Schmidt |
| T | Temperatura [K] |
| t | Tempo no equilíbrio [min] |
| V | Volume [L] |
| X | Média aritmética do número de medições |
| Xisto - Ac | Xisto tratado com ácido acético |

Letras gregas

| | |
|----------------------|--|
| ε_γ | Porosidade da fase fluida na microescala |
| ε_σ | Porosidade da fase sólida na macroescala |
| ε_β | Porosidade da fase fluida na macroescala |
| θ | Parâmetro ponderal |
| δ | Espessura do biofilme [m] |
| Δt | Intervalo de tempo de integração [s] |
| Δz | Comprimento de um volume elementar [m] |

Índices inferiores

| | |
|------|---|
| A | Refere-se à espécie química A |
| w, e | Ponto de localização das propriedades nas faces do volume de controle centrado em P |

W, E Ponto de localização das propriedades no centro do volume de controle centrado em P

Índices superiores

0 Condição inicial
n Contador

SUMÁRIO

| | | |
|---------------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 31 |
| 1.1 | OBJETIVO..... | 33 |
| 1.1.1 | Objetivo geral..... | 33 |
| 1.1.2 | Objetivos específicos..... | 34 |
| 1.2 | CONTRIBUIÇÃO DO TRABALHO..... | 34 |
| 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 37 |
| 2.1 | PETRÓLEO..... | 37 |
| 2.1.1 | Refino..... | 38 |
| 2.1.2 | Efluentes das indústrias de petróleo..... | 39 |
| 2.1.2.1 | Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos..... | 40 |
| 2.1.2.2 | Tratamento dos efluentes da indústria petroquímica.. | 41 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 63 |
| 3.1 | EXPERIMENTOS DE ADSORÇÃO..... | 63 |
| 3.1.1 | Adsorbatos..... | 63 |
| 3.1.2 | Adsorvente..... | 63 |
| 3.1.3 | Solventes..... | 63 |
| 3.1.5 | Caracterização física do adsorvente..... | 64 |
| 3.1.5.1 | Tamanho de partícula..... | 64 |
| 3.1.6 | Caracterização química do adsorvente..... | 65 |
| 3.1.6.1 | Determinação de Grupos Funcionais de Superfície..... | 65 |
| 3.1.7 | Caracterização Textural do Adsorvente..... | 65 |
| 3.1.7.1 | Área superficial..... | 65 |
| 3.1.7.2 | Distribuição e volume total de poros..... | 66 |
| 3.1.8 | Caracterização morfológica..... | 66 |
| 3.1.8.1 | Microscopia eletrônica de varredura..... | 66 |
| 3.1.9 | Tratamentos do adsorvente..... | 66 |
| 3.1.9.1 | Tratamento ácido..... | 67 |
| 3.1.9.2 | Tratamento com base..... | 67 |
| 3.1.9.3 | Tratamento térmico..... | 67 |
| 3.1.9.4 | Tratamento com surfactantes..... | 68 |
| 3.1.10 | Testes de adsorção..... | 68 |
| 3.1.10.1 | Influência da granulometria do adsorvente..... | 69 |
| 3.1.10.2 | Influência do pH..... | 69 |
| 3.1.10.3 | Influência da massa de adsorvente..... | 70 |
| 3.1.10.4 | Influência de diferentes tratamentos..... | 70 |
| 3.1.11 | Cinética de adsorção em batelada..... | 70 |
| 3.1.12 | Isotermas de adsorção..... | 70 |
| 3.2 | EXPERIMENTOS BIODEGRADAÇÃO..... | 71 |
| 3.2.1 | Material utilizado para imobilização da biomassa..... | 71 |

| | | |
|---------|---|----|
| 3.2.2 | Compostos orgânicos..... | 71 |
| 3.2.3 | Solução Macro e Micronutriente..... | 71 |
| 3.2.4 | Inóculo..... | 71 |
| 3.2.5 | Concentração de Oxigênio..... | 71 |
| 3.2.6 | pH..... | 72 |
| 3.2.7 | Quantificação da Biomassa..... | 72 |
| 3.2.8 | Exames Microbiológicos..... | 72 |
| 3.2.9 | Identificação dos Micro-organismos – Análises de Biologia Molecular..... | 73 |
| 3.2.10 | Imobilização da Biomassa..... | 73 |
| 3.2.11 | Cinéticas de biodegradação..... | 75 |
| 3.3 | ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS..... | 75 |
| 3.3.1 | Validação do método..... | 79 |
| 3.3.1.1 | Seletividade..... | 79 |
| 3.3.1.2 | Linearidade..... | 79 |
| 3.3.1.3 | Exatidão..... | 80 |
| 3.3.1.4 | Precisão..... | 80 |
| 3.3.1.5 | Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)..... | 80 |
| 3.4 | MODELAGEM MATEMÁTICA..... | 81 |
| 3.4.1 | Parâmetros do modelo..... | 82 |
| 3.4.1.1 | Coefficiente de Dispersão Total na Macroescala..... | 82 |
| 3.4.1.2 | Porosidade na Microescala..... | 83 |
| 3.4.1.3 | Massa Específica do Biofilme Seco..... | 83 |
| 3.4.1.4 | Área Superficial por Unidade de Volume na Macroescala..... | 84 |
| 3.5 | FORMULAÇÃO NUMÉRICA..... | 84 |
| 3.5.1 | Métodos dos Volumes Finitos..... | 84 |
| 3.5.1.1 | Discretização das Equações pelo Método dos Volumes Finitos..... | 85 |
| 3.5.1.2 | Funções de Interpolação..... | 88 |
| 3.6 | Algoritmo Computacional..... | 90 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 91 |
| 4.1 | EXPERIMENTOS de adsorção..... | 91 |
| 4.1.1 | Distribuição granulométrica..... | 91 |
| 4.1.2 | Grupos funcionais de superfície..... | 92 |
| 4.1.3 | Microscopia eletrônica de varredura..... | 94 |
| 4.1.4 | Área superficial e volume de poros..... | 95 |
| 4.1.5 | Influência da granulometria..... | 95 |
| 4.1.6 | Influência do pH..... | 97 |
| 4.1.8 | Influência dos diferentes tratamentos..... | 98 |
| 4.2.4.1 | Tratamento ácido..... | 98 |

| | | |
|--------------|---|------------|
| 4.2.4.2 | Tratamento alcalino..... | 101 |
| 4.2.4.3 | Tratamento Térmico..... | 102 |
| 4.2.4.4 | Tratamento com surfactantes..... | 104 |
| 4.1.9 | Cinéticas de adsorção..... | 107 |
| 4.1.9.1 | Ajustes cinéticos..... | 110 |
| 4.1.10 | Isotermas de adsorção..... | 118 |
| 4.2 | EXPERIMENTOS DE BIODEGRADAÇÃO..... | 122 |
| 4.2.1 | Identificação dos micro-organismos..... | 122 |
| 4.2.2 | Microscopia eletrônica de varredura..... | 128 |
| 4.2.3 | Curvas de degradação dos compostos BTEX..... | 130 |
| 4.2.3.1 | Biodegradação dos compostos monocomponentes..... | 130 |
| 4.2.3.2 | Cinéticas de biodegradação bicomponente..... | 134 |
| 4.2.3.3 | Cinéticas de biodegradação tricompontentes..... | 139 |
| 4.2.3.4 | Cinética quadricomponente..... | 142 |
| 4.3 | VALIDAÇÃO DO MÉTODO..... | 142 |
| 4.3.1 | Seletividade..... | 143 |
| 4.3.2 | Linearidade..... | 143 |
| 4.3.3 | Exatidão..... | 146 |
| 4.4.4 | Precisão..... | 147 |
| 4.3.5 | Limite de detecção e quantificação..... | 147 |
| 4.4 | SIMULAÇÃO DOS EXPERIMENTOS EM COLUNA..... | 148 |
| 5 | CONCLUSÕES..... | 157 |
| 6 | REFERÊNCIAS..... | 161 |
| | APÊNDICE A – Determinação da biomassa..... | 175 |
| | ANEXO A – Metodologia de identificação dos micro-organismos utilizada pela empresa neoprospecta..... | 179 |
| | Anexo II..... | 181 |

1.INTRODUÇÃO

A poluição química das águas de superfície representa uma ameaça para o ambiente aquático, com efeitos negativos e fortemente impactantes sobre os ecossistemas (toxicidade crônica e aguda para os organismos aquáticos, acumulação no ecossistema e perdas de habitat e da biodiversidade, devido à baixa biodegradabilidade dos poluentes), bem como sobre a saúde humana (efeitos carcinogênicos e mutagênicos) (PETROVA *et al.*, 2011).

Os processos petroquímicos consistem na obtenção de derivados químicos a partir de combustíveis fósseis. Estes derivados incluem combustíveis fósseis purificados como o metano, propano, butano, gasolina, querosene, combustíveis da aviação, assim como pesticidas, herbicidas, fertilizantes e outros artigos como plásticos, borracha, asfalto e fibras sintéticas, muitos dos quais substituem as matérias-primas tradicionais, sendo esse o principal fator do crescimento da indústria petroquímica.

Este tipo de indústria utiliza grandes quantidades de água, gerando, conseqüentemente, grandes quantidades de águas residuárias, que depende fortemente da configuração do processo. Para uma refinaria com reciclo de água para resfriamento, um consumo de água de 3,5 a 5 m³ por tonelada de petróleo bruto pode ser considerada. Por esse motivo esforços têm sido realizados para racionalizar e diminuir o consumo de água, mitigando a descarga de águas residuárias, assim como a despoluição das mesmas.

A toxicidade dos produtos químicos envolvidos no refino do petróleo e indústria petroquímica, considerando-se ainda o uso extensivo dos mesmos, leva à contaminação de quase todos os recursos ambientais, particularmente nas zonas de produção, refinarias e complexos industriais. O ar, a superfície dos solos e ambientes aquáticos estão expostos à contaminação por produtos e subprodutos desta indústria (NOURMORADI *et al.*, 2012).

A remoção da matéria orgânica dos efluentes industriais é a finalidade maior dos processos de tratamento, em decorrência da magnitude do impacto causado pelos poluentes orgânicos nos sistemas hídricos e da necessidade de devolver aos corpos receptores, água já utilizada e tratada com melhor qualidade possível. Os compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX), hidrocarbonetos aromáticos voláteis e inflamáveis, têm sido utilizados em solventes e existem em muitos combustíveis, tais como a gasolina. Esses compostos apresentam diversos efeitos nocivos à saúde incluindo cancer, irritação

das mucosas, alterações hematológicas, doença do sistema nervoso central, problemas respiratórios e perturbações do fígado e rim (NOURMORADI *et al.*, 2012). No Brasil o valor máximo estabelecido pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente através da resolução 357, para descarte em corpos de água é de 5 µg/L para o benzeno, 2 µg/L para o tolueno, 90 µg/L para o etilbenzeno e 300 µg/L para os xilenos (CONAMA, 2005).

Portanto, a remoção desses compostos das águas residuárias é essencial. Diversos métodos como oxidação química tratamento biológico e adsorção têm sido utilizados com sucesso para remoção de compostos BTEX de águas residuárias (NOURMORADI *et al.*, 2012).

A tecnologia de adsorção surgiu como uma técnica bem sucedida para combater os problemas ambientais crescentes nas últimas décadas, principalmente pela remoção seletiva dos poluentes e a possibilidade de reutilização dos adsorventes. O carvão ativado é talvez o adsorvente mais largamente utilizado para compostos orgânicos, devido à sua alta capacidade de adsorção. No entanto, ele é um material relativamente caro, e também tem um alto custo para a sua regeneração/reativação. Portanto recentes estudos têm sido focados a fim de encontrar novos adsorventes abundantes e baratos que possam substituir o carvão ativado na remoção de compostos orgânicos (AIVALIOTI *et al.*, 2012).

Recentemente, os processos de tratamento biológicos que usam a capacidade natural dos micro-organismos para degradar poluentes em produtos menos tóxicos e utilizam o carbono contido nesses compostos tóxicos, é uma alternativa atrativa, para o tratamento dos efluentes petroquímicos. As numerosas vantagens dos métodos biológicos incluem degradação direta, prevenindo o aumento da contaminação do ambiente; redução dos poluentes em produtos de reação menos prejudiciais (biomassa, CO₂, H₂O e sal), a fonte de energia para a decomposição do contaminante é fornecida pelo próprio contaminante e o investimento e o custo de operação são baixos comparados a outras tecnologias. Os processos biológicos empregam células livres ou imobilizadas. A imobilização dos micro-organismos é realizada em materiais de suporte como *pellets* de polipropileno porosos, alginato de Ca / Na, esferas de alginato-PVA para aumentar a adesão dos micro-organismos (EL-NAAS *et al.*, 2014).

O xisto, folhelho pirobetuminoso, é uma rocha sedimentar que contém disseminado em sua matriz mineral, um complexo orgânico denominado querogênio que se decompõe sobre o efeito do calor gerando óleo e gás. O volume de óleo contido no xisto compreende

cerca de 7% do volume da rocha, os recursos de xisto são abundantes, estima-se que a quantidade de óleo, como reserva em potencial, é muitas vezes superior a convencional obtida em poços de petróleo. A segunda maior reserva de xisto conhecida no mundo, encontra-se no Brasil e sua exploração teve início em 1970. Atualmente, apenas quatro países no mundo possuem em atividade unidades que fazem o aproveitamento comercial dos recursos do xisto para obtenção de óleo e produção de energia, dentre esses países, o Brasil se destaca como detentor da tecnologia mais avançada (PIMENTEL, *et al.*, 2006).

A Unidade de Industrialização de Xisto no Brasil está localizada em São Mateus do Sul, no estado do Paraná. Esta unidade está sob a maior reserva brasileira de xisto, que é a Formação Irati, da qual são extraídas diariamente 7.800 toneladas de xisto. Em consequência, há geração de um rejeito sólido (xisto retornado) que representa 80 a 90% da matéria prima de alimentação do processo. Muitas pesquisas vêm sendo realizadas com intuito de se encontrar uma aplicação do xisto retornado que é produzido em grandes quantidades no processo de extração do óleo (PIMENTEL, *et al.*, 2006).

Dentro deste contexto este trabalho tem como motivação principal a utilização do xisto retornado para adsorção de compostos monoaromáticos presentes no efluente da indústria petroquímica, assim como a utilização desse xisto retornado como suporte de biofilme para a biodegradação desses compostos, visto que o emprego de resíduos industriais no tratamento de efluentes líquidos é muitas vezes vantajoso, pois além de remover os contaminantes de efluentes, reduz o impacto ambiental causado pela disposição desse próprio rejeito.

1.1 OBJETIVO

1.1.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo determinar a viabilidade técnica do uso do xisto retornado na adsorção de benzeno, tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno presentes em efluentes aquosos provenientes da indústria de petróleo, assim como investigar a utilização do xisto retornado como suporte de biofilme (micro-organismos aderidos ao xisto retornado), na biodegradação desses mesmos compostos orgânicos, individualmente e em misturas binárias, ternárias e quaternárias, a fim de avaliar as possíveis interações existentes durante a biodegradação.

1.1.2 Objetivos específicos

- Desenvolver e validar uma metodologia para análise de compostos BTEX em matriz aquosa utilizando a técnica de microextração em fase sólida em cromatografia gasosa;
- Realizar ensaios preliminares de adsorção variando-se: granulometria, pH inicial da solução, massa de adsorvente a fim de se obter as melhores condições para realização das cinéticas e isotermas de adsorção;
- Realizar a caracterização química, textural e morfológica do adsorvente;
- Realizar tratamentos em xisto utilizando diferentes agentes como ácidos, bases, surfactantes e temperatura, a fim de se aumentar a capacidade de adsorção desse adsorvente;
- Realizar o estudo da cinética de adsorção em reator batelada monocomponente para se determinar o tempo de equilíbrio de adsorção dos compostos BTEX;
- Realizar o estudo de equilíbrio termodinâmico monocomponente dos compostos BTEX em reator batelada, para a determinação dos parâmetros de equilíbrio;
- Adaptar os micro-organismos obtidos de uma estação de tratamento de esgoto doméstico a um meio contendo compostos BTEX;
- Obter as cinéticas de biodegradação individual e em misturas binárias, ternárias e quaternárias, utilizando o biofilme suportado em xisto retortado;
- Identificar os micro-organismos presentes no lodo utilizado para a biodegradação dos compostos BTEX antes e após a adaptação;
- Simular o processo de biodegradação dos compostos BTEX, utilizando modelo matemático da literatura.

1.2 CONTRIBUIÇÃO DO TRABALHO

Existem muitos estudos relatados na literatura sobre a aplicação de diferentes adsorventes para os compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos assim como, suportes de biofilmes para a biodegradação desses mesmos compostos em soluções aquosas. Entretanto, estudos que tratem do emprego do xisto retortado como adsorvente e suporte para biofilmes não foram encontrados na literatura. Os resultados desta pesquisa serão de grande relevância para determinar a viabilidade técnica do uso do xisto retortado como adsorvente e suporte no processo de biodegradação, visando à descontaminação de

efluentes aquosos pela remoção dos compostos BTEX. A busca por novos adsorventes e suportes baratos vem aumentando com o passar dos anos, assim como dar uma destinação mais racional aos resíduos sólidos dos processos industriais é um desafio da indústria petroquímica que processa o xisto betuminoso. A principal contribuição desse trabalho é o estudo da adsorção monocomponente e da biodegradação mono, bi, tri e quadricomponente, dos compostos BTEX, através de ensaios em batelada utilizando o xisto retornado como suporte do biofilme.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PETRÓLEO

O petróleo é uma substância oleosa, inflamável, menos densa que a água, com cheiro característico e de cor variando entre o negro e o castanho escuro. O petróleo é uma mistura complexa de hidrocarbonetos, com quantidades relativamente pequenas de compostos orgânicos sulfurados, nitrogenados, oxigenados e organometálicos. Predominam entre os hidrocarbonetos, os acíclicos saturados (alcanos) tanto de cadeia normal como ramificada, e os cíclicos, da família dos cicloalcanos, além dos aromáticos. Existem também hidrocarbonetos mistos onde uma mesma molécula apresenta radicais de mais de um tipo (CORREA, 2003).

Os demais compostos, por figurarem na composição com teores minoritários, são classificados como impurezas oleofínicas, porque se encontram dissolvidas no petróleo, fazendo parte de sua constituição. São considerados impurezas também porque do ponto de vista do refinador, conferem ao petróleo propriedades indesejáveis, que são o motivo da existência de muitos processos dispendiosos de tratamento. A Tabela 1 mostra as impurezas oleofínicas de acordo com os teores em que ocorrem.

Tabela 1. Teor das impurezas oleofínicas no petróleo.

| Tipos de compostos | Teor (%) |
|---|--------------------------|
| Sulfurados | 0,1 – 5 como enxofre |
| Nitrogenados | 0,05 – 15 em volume |
| Oxigenados (não ácidos) como resinas, cresóis, etc. | 0 – 2 como oxigênio |
| Oxigenados (ácidos naftalênicos) | 0 - 4 em volume |
| Organometálicos (ferro, níquel, cobre, vanádio, arsênico, etc.) | Até 400 ppm, como metal. |

Fonte: CAMPOS e LEONTSINIS, 1989.

Além das impurezas oleofínicas, o petróleo apresenta as impurezas oleofóbicas, assim chamadas por não ser parte integrante do petróleo, mas coexistirem com ele na natureza ou serem introduzidas durante a obtenção do petróleo cru. Basicamente são água, sais, argilas, areia e sedimentos provenientes da corrosão de equipamentos (CAMPOS e LEONTSINIS, 1989). O petróleo apresenta vários graus

de toxicidade, sendo os compostos aromáticos os mais tóxicos, seguidos pelos cicloalcanos e alcanos (ZHU *et al.*, 1988).

2.1.1 Refino

No seu estado bruto, o petróleo tem pouquíssimas aplicações, servindo quase que somente como óleo combustível. Para que o potencial energético do petróleo seja aproveitado ao máximo, ele deve ser submetido a uma série de processos, a fim de se desdobrar nos seus diversos derivados.

O refino do petróleo consiste na série de beneficiamentos pelos quais passa o mineral bruto, para a obtenção desses derivados, estes sim, produtos de grande interesse comercial. Esses beneficiamentos englobam etapas físicas, e químicas de separação, que originam as grandes frações de destilação. Estas frações são então processadas através de outra série de etapas de separação e conversão que fornecem os derivados finais do petróleo. Refinar petróleo é, portanto, separar as frações desejadas, processá-las e lhes dar acabamento, de modo a se obterem produtos vendáveis (NEIVA, 1986). Os principais derivados do petróleo e suas aplicações são mostrados na Tabela 2

Tabela 2. Principais derivados do petróleo e suas aplicações

| Derivado | Uso principal |
|----------------------------------|---|
| Combustível | |
| Gasolina | Combustível automotivo |
| Óleo Diesel | Combustível automotivo |
| Óleo Combustível | Indústria naval, Geração de eletricidade. |
| Gás Liquefeito de Petróleo (GLP) | Cocção |
| Querosene de aviação | Combustível Aeronáutico |
| Querosene iluminante | Iluminação |
| Insumo Petroquímico | |
| Parafina | Velas, Indústria Alimentícia. |
| Nafta | Matéria-prima Petroquímica |
| Propeno | Matéria-prima para plásticos e tintas |
| Outros | |
| Óleos lubrificantes | Lubrificação de óleos e motores |
| Asfalto | Pavimentação |

Nas refinarias, o óleo bruto passa por uma série de processos até a obtenção dos produtos derivados, como gasolina, diesel, lubrificantes, nafta e querosene de aviação. Outros produtos obtidos a partir do refino do petróleo são os petroquímicos. Eles substituem uma grande quantidade de matérias-primas, como madeira, vidro, algodão, metais, celulose e até mesmo as de origem animal, como lã, couro e marfim (PETROBRAS, 2012).

2.1.2 Efluentes das indústrias de petróleo

Devido ao aumento da importância do petróleo para o desenvolvimento industrial durante o século passado, efluentes petroquímicos têm tido um impacto significativo sobre a poluição dos sistemas hídricos superficiais (BOTALOVA *et al.*, 2009).

Do ponto de vista ambiental, as refinarias são grandes geradoras de poluição. Elas consomem grandes quantidades de água e de energia, produzem grandes quantidades de despejos líquidos, liberam diversos gases nocivos para a atmosfera e produzem resíduos sólidos de difícil tratamento e disposição (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Durante o processo de refino do petróleo, são utilizados em média 246 a 340 litros de água por barril de óleo cru (ALVARGAEZET *et al.*, 2007), gerando uma quantidade de água residuária em torno de 0,4 a 1,6 vezes o volume de óleo processado durante a transformação do material bruto em produtos tais como gasolina, querosene, lubrificantes, nafta, diesel etc. Empregam-se para o refino, grande variedade de solventes com diferentes graus de solubilidade para extrair as substâncias desejáveis (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Segundo Mariano (2001) a geração de efluentes líquidos nas unidades petroquímicas geralmente pode ser categorizada da seguinte forma.

- a) águas residuárias contendo a matéria-prima principal ou produto;
- b) águas residuárias contendo subprodutos produzidos durante as reações;
- c) provenientes de derrames, fugas por gotejamentos e outros, lavagem de reatores ou pontos de transbordamento;
- d) provenientes de torres de resfriamento, da condensação de vapor, de água de lavagem geral;
- e) provenientes de águas pluviais.

Os efluentes líquidos gerados pela indústria petroquímica podem ser classificados em não contaminados e orgânicos, de acordo com as suas características físicoquímicas. Tipicamente, o sistema de efluentes não contaminados recebe correntes com características inorgânicas, como por exemplo: purgas dos sistemas de água de resfriamento e de geração de vapor. Já o sistema orgânico coleta efluentes contaminados com compostos orgânicos, tipo drenagem de água de processo e drenagem de tanque (MUSTAFA 1998).

2.1.2.1 Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos

O benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos são hidrocarbonetos aromáticos inflamáveis e voláteis, tem sido utilizado como solventes e existem em muitos combustíveis como a gasolina (NOURMORADI *et al.*, 2012), esses compostos representam alguns dos maiores contaminantes de águas subterrâneas que possuem propriedades tóxicas e/ou carcinogênicas (AIVALIOTI *et al.*, 2012). Segundo Nourmoradi *et al.*, (2012) os compostos BTEX causam diversos efeitos a saúde como: irritação das mucosas, alterações hematológicas, prejuízo ao sistema nervoso central, problemas respiratórios, interrupção do fígado e rim, e até o desenvolvimento de câncer, no caso do benzeno, um composto classificado pela Organização Mundial de Saúde como potente agente carcinogênico (HELENO, *et al.*, 2010) e que ocupa o sexto lugar na lista das substâncias mais perigosas (COSTA *et al.*, 2012).

As características básicas dos compostos BTEX encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Propriedades físicas e químicas dos compostos BTEX

Fonte: GITIPOUR, *et al.*, 1998.

| | Benzeno | Tolueno | Etilbenzeno | <i>o</i>-xileno |
|-----------------------------------|----------------|----------------|--------------------|------------------------|
| Formula | C_6H_6 | $C_6H_5CH_3$ | $C_6H_5CH_2CH_3$ | $C_6H_4(CH_3)_2$ |
| Peso molecular | 78,11 | 92,1 | 106,17 | 106,17 |
| Ponto de ebulição | 80,1 | 110,8 | 136 | 144,4 |
| Solubilidade em água (ppm) | 1780 | 515 | 152 | 175 |
| Densidade (g/mL) | 0,88 | 0,87 | 0,87 | 0,88 |
| Pressão de vapor (torr) | 75 | 22 | 7 | 6 |

A contaminação por benzeno, etilbenzeno, tolueno e isômeros de xileno (BTEX), estão associados a produtos derivados do petróleo, como por exemplo, a gasolina que apresenta cerca de 10 a 59% de compostos aromáticos (EZQUERRO *et al.*, 2004), e as fontes mais comuns dessa contaminação são os tanques de armazenamento subterrâneo de gasolina e os derrames em refinarias (AIVALIOTI *et al.*, 2012). Outras fontes de contaminação dos compostos BTEX são: indústrias petroquímicas, indústrias químicas, postos de gasolina e efluentes da agricultura. Esses compostos orgânicos são extensamente usados em processos como matéria prima para obtenção dos seguintes produtos, o benzeno é usado na produção de materiais sintéticos como borracha sintética, plásticos, nylon, inseticidas e tintas. O tolueno é usado como solvente de tintas, coberturas, colas, óleos e resinas. O etilbenzeno pode estar presente em tintas, vernizes, plásticos e pesticidas. O xileno é usado como solvente para plásticos, tintas, borracha, pesticidas e na indústria de couros (TAVARES, 2007).

No Brasil o valor máximo estabelecido pelo Conselho Nacional de meio ambiente (CONAMA) através da resolução 357, para descarte em corpos de água 5 µg/L para o benzeno, 2 µg/L para o tolueno, 90 µg/L para o etilbenzeno e 300 µg/L para os xilenos (CONAMA, 2005).

2.1.2.2 Tratamento dos efluentes da indústria petroquímica

A crescente conscientização ambiental, associada às rigorosas legislações vigentes, tem contribuído significativamente para a implantação de estações de tratamento de efluentes como uma etapa obrigatória no ciclo produtivo dos processos industriais, independentemente da área de atuação (SOUZA, 2008).

Os efluentes residuais das refinarias de petróleo geralmente necessitam de tratamento antes de sua reutilização ou descarga (ALVARGÁEZ *et al.*, 2007).

Muitos dos compostos tóxicos presentes nos despejos das refinarias de petróleo, mesmo quando presentes em concentrações inferiores as letais podem provocar danos à biota seja de ambientes terrestres ou aquáticos. Os maiores problemas das contaminações por derivados de petróleo são atribuídos aos hidrocarbonetos monoaromáticos (BTEX) (ARAMBARRI *et al.*, 2004), que se encontram presentes no maior produto do petróleo, a gasolina (GAROM e SKIDMORE, 2011), e que em comparação aos outros hidrocarbonetos são os compostos mais solúveis em água e tem propriedades genotóxicas (CHAVEZ *et al.*, 2010).

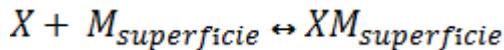
Adsorção

Segundo Aivaliot *et al.* (2010), vários processos têm sido estudados e aplicados para remoção desses compostos de águas residuárias incluindo: biorremediação, volatilização, oxidação bem como adsorção. Contudo, na prática, a utilização desses processos de remoção em larga escala apresenta certas vantagens e desvantagens quanto aos parâmetros de aplicabilidade, custos e eficiência.

Dentre esses métodos, adsorção tem se mostrado uma tecnologia eficiente para separar poluentes tóxicos do ambiente aquático (MUKHERJEE *et al.*, 2007). Esse processo é uma das melhores alternativas para remoção dos compostos BTEX a partir de soluções aquosas porque é possível a recuperação tanto do adsorvente como dos adsorbatos (NOURMORADI *et al.*, 2012) e é relativamente simples em comparação aos outros métodos existentes (AIVALIOTI, *et al.*, 2012).

O termo adsorção foi criado por Kayser em 1881 para descrever o aumento da concentração das moléculas de gás na superfície de um sólido (MALHERBE, 2000).

Segundo Sohn e Kin (2005) em um determinado sistema adsorbato-adsorvente, o equilíbrio dinâmico entre adsorção e dessorção do adsorbato, X (ex. Gás ou soluto) pode ser expresso da seguinte maneira:



O processo de adsorção envolve a separação de uma substância ou adsorção desta, seguido pelo seu acúmulo na superfície do adsorvente. A capacidade de adsorção de diferentes adsorventes é fortemente dependente da temperatura, área superficial disponível, polaridade, tempo de contato entre o adsorvente e adsorbato, concentração inicial do adsorbato e do pH da fase fluída (ABDULLAH *et al.*, 2009).

Existem dois tipos principais de adsorção: física e química. No primeiro caso, não há alteração das moléculas adsorvidas, conservando estas a sua identidade; as substâncias adsorvidas não são fixas em locais específicos da superfície, mas sim sujeitas a um movimento de translação dentro da interface. É caracterizada por um calor de adsorção relativamente baixo e é favorecida por baixas temperaturas ($\Delta H_{\text{ads}} < 0$ - lei de Van't Hoff). A adsorção deste tipo é por vezes referida como adsorção “ideal”.

No caso da adsorção química (adsorção ativada ou quimissorção) esta ocorre como resultado da partilha de elétrons entre o adsorvente e a substância adsorvida, localizando-se as ligações químicas nos centros ativos. Assim as substâncias não são livres para se moverem na superfície ou interface. É caracterizada por altas energias de adsorção e favorecida por altas temperaturas (MORAES, 1996). A Tabela 4 mostra esses dois tipos de adsorção e suas características.

Tabela 4.Tipos de adsorção e suas características

| Parâmetro | Adsorção Física | Adsorção química |
|--|-------------------------|---|
| Natureza da ligação adsorbato-adsorvente | Forças de Van Der Waals | Partilha de elétrons |
| Superfície disponível | Toda (não específica) | Só centros ativos (alta especificidade) |
| Número de camadas | Múltiplas | Monocamada |
| Zona de temperatura | Baixa | Geralmente alta |
| Calor de adsorção | Baixo | Alto |
| Reversibilidade | Reversível | Frequentemente irreversível |
| Estequiometria | Não | Não |

Fatores que influenciam na adsorção

Segundo Ruthven (1984), vários fatores internos e externos ao adsorvente interferem diretamente no processo de adsorção. Dentre eles, citam-se:

- *Área superficial do adsorvente*: Uma área superficial específica grande é preferível por aumentar a capacidade de adsorção, mas a criação de uma área superficial interna grande em volume limitado inevitavelmente provoca o aparecimento de grande número de poros de tamanho pequeno em superfície de adsorção. O tamanho do microporo determina a capacidade das moléculas de soluto de acessá-lo, de tal modo que a distribuição de tamanho do poro é outra propriedade importante para a caracterização da adsorvidade dos adsorventes;

- *Temperatura*: Normalmente, as reações de adsorção são exotérmicas. Assim sendo, o aumento da temperatura diminui o grau de adsorção. As alterações na entalpia de adsorção são, em geral, da ordem dos calores de condensação e, assim, variações reduzidas de temperatura não alteram significativamente o processo de adsorção;

- *pH*: O pH da solução onde se encontra o soluto pode influenciar o grau de adsorção, visto que íons hidrogênio e hidróxido podem ser fortemente adsorvidos, e a adsorção de outros íons é grandemente influenciada pelo pH. Uma vez que a adsorção ocorre devido às forças intermoleculares, a presença de íons na solução exerce influência direta na adsorção;

- *Múltiplos solutos*: Diferentes solutos presentes na solução podem aumentar mutuamente a adsorção, agir relativamente independentes ou interferir um com o outro;

- *Natureza do adsorvente e do soluto*: As características físico-químicas do adsorvente e do adsorbato influenciam grandemente na taxa e na capacidade de adsorção, pois sua solubilidade será de grande relevância, assim como o número de compostos a serem adsorvidos;

- *Solubilidade*: O aumento da solubilidade dificulta a atração do adsorvente. Grupos polares geralmente dificultam a adsorção de soluções aquosas pela alta afinidade com a água.

- *Polaridade*: A polaridade superficial corresponde à afinidade com substâncias polares tais como a água. Adsorventes polares são chamados hidrofílicos, enquanto os apolares são hidrofóbicos. Adsorventes, como o carvão, são tipicamente não polares.

- *Velocidade de agitação*: Melhores resultados são obtidos quando se tem uma dispersão de partículas homogêneas, porque diminui a espessura da camada limite e aumenta a taxa de transferência de massa.

Adsorventes

O recente desenvolvimento da tecnologia de separação por adsorção tem incluído o desenvolvimento de novos adsorventes que oferecem algumas características atraentes (REZAEI e WEBLEY, 2009).

A seleção de um adsorvente inclui considerações da área superficial bem como o tipo de soluto e solvente envolvido no processo de adsorção, desde relatos dos tipos de ligações que são formados entre o sólido e o fluido. A quantidade de adsorbato que pode ser coletado em uma unidade de área superficial é pequena. Assim, os adsorventes porosos com grande superfície interfacial são selecionados para

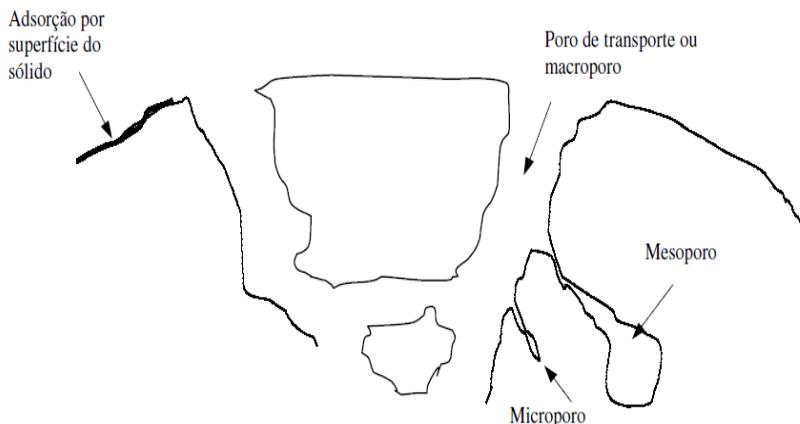
aplicações industriais. Exemplos de adsorventes que seguem este critério são: carvão ativo, sílica gel, alumina ativada, biomassa de alga marinha, zeólitas, entre outros (BORBA, 2006).

Outra característica importante dos materiais adsorventes é a distribuição do tamanho médio de poro, definido como o tamanho espacial disponível em uma partícula que é capaz de ocupar no poro de um adsorvente. Conforme a classificação da (IUPAC, 2006) segundo o seu tamanho médio, os poros são classificados em:

- (i) Poros com diâmetro superior a $0,05\ \mu\text{m}$ ou $50\ \text{nm}$ (500Å) são chamados macroporos;
- (ii) Poros com diâmetro não excedente a $2,0\ \text{nm}$ ($20\ \text{Å}$) são chamados microporos;
- (iii) Poros com diâmetros intermediários ($20\ \text{nm} < dp < 50\ \text{nm}$) são chamados de mesoporos;

Na Figura 1 tem-se a representação aproximada de como seria a estrutura de um material adsorvente em relação aos poros (JORGE, 2006).

Figura 1. Estrutura dos poros de um material adsorvente genérico



Os microporos contribuem para a maioria da área superficial que proporciona alta capacidade de adsorção para moléculas de dimensões pequenas, tais como gases e solventes comuns, os mesoporos são importantes para adsorção das moléculas grandes tais como corantes

e pigmentos. Os macroporos são normalmente considerados sem importância para adsorção e sua função é servir como meio de transporte para moléculas gasosas (JORGE, 2006).

O carvão ativado é o material mais extensivamente utilizado como adsorvente para o a remoção de compostos orgânicos voláteis como o benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos dos efluentes, no entanto, ele é um adsorvente caro (NOURMORADI *et al.*, 2012).

Devido ao alto custo do carvão ativado, um grande número de adsorventes tem sido utilizado como alternativa para substituição desse material (TUTEM *et al.*, 1997). A pesquisa de novos materiais tem contribuído para o aproveitamento de uma grande quantidade de resíduos, potencialmente poluidores, conferindo valor a estes e reduzindo o custo do adsorvente usado no tratamento de águas residuárias, dentre esses resíduos destaca-se o xisto retortado.

Xisto

O termo xisto, ainda que geologicamente impróprio, é usado generalizadamente para designar as rochas oleígenas no Brasil, ou seja, rochas sedimentares que apresentam um conteúdo apreciável de hidrocarbonetos disseminados em seu meio mineral. O termo mais exato para esse tipo de rocha seria “folhelhos”, que são rochas resultantes da decomposição de materiais minerais e orgânicos no fundo de grandes lagos ou mares interiores. Os agentes químicos e micro-organismos transformam, ao longo de milhões de anos, a matéria orgânica presente nessas rochas em um complexo orgânico de composição indefinida, denominado querogênio (gerador de cera), que, quando convenientemente aquecido, produz um óleo semelhante ao petróleo (PIMENTEL, 2006).

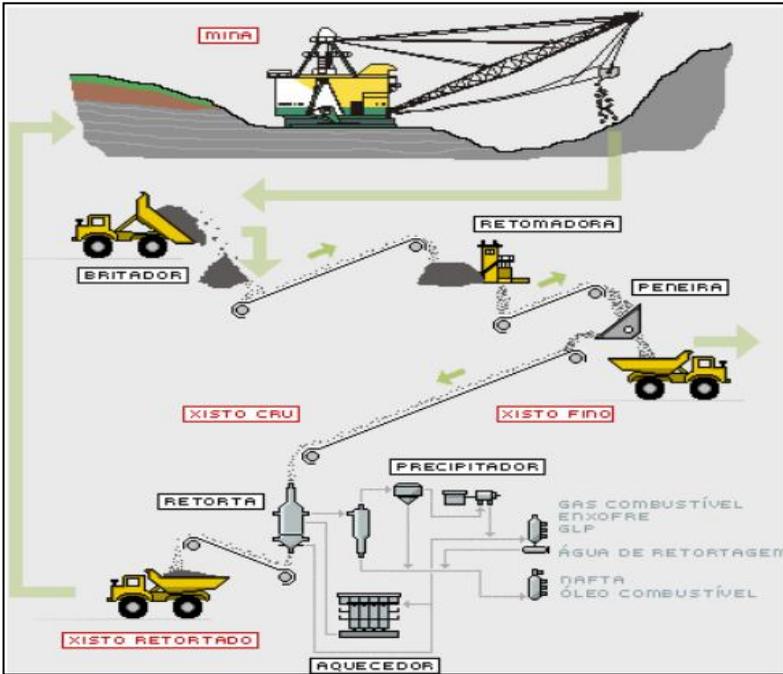
O volume de óleo presente no xisto oleígeno é cerca de 7% do seu volume total. Esse óleo não é facilmente separado e extraído por solventes comuns, os métodos mais utilizados são: a combustão, retortagem e liquefação. Entre os produtos oriundos do xisto estão o óleo combustível, a nafta, gás combustível, gás liquefeito e enxofre e ainda subprodutos que podem ser utilizados nas indústrias de asfalto, cimenteira, agrícola e de cerâmica. As fontes existentes de xisto são extremamente abundantes, estima-se que a quantidade de óleo, como reserva potencial, é muitas vezes superior à convencional obtida em poços de petróleo. Somente quatro países no mundo (Austrália, Brasil, China e Estônia) exploram comercialmente as reservas de xisto, tanto para extração do óleo como para produção de energia em termoelétricas.

Dentre esses países, o Brasil se destaca como detentor da tecnologia mais avançada (PIMENTEL, 2010).

A Petrobras, única empresa a utilizar o xisto para fins energéticos no Brasil, concentra suas operações na jazida localizada em São Mateus do Sul, no Estado do Paraná, onde está instalada sua Unidade de Negócio da Industrialização do Xisto (SIX) (ANP, 2011). Esta unidade está sob a maior reserva brasileira de xisto, a Formação Irati, da qual são extraídas diariamente 7.800 toneladas de xisto, e em consequência há geração de um rejeito sólido (xisto retornado) que representa 80 a 90% da matéria prima de alimentação do processo (PIMENTEL, 2010), cuja disposição e/ou utilização representa um dos maiores problemas da industrialização do xisto em qualquer parte do mundo com os concomitantes reflexos negativos na rentabilidade econômica do processo (SANTOS, 1992).

Na UN-SIX o xisto é minerado a céu aberto e transportado para um britador, que o reduz a fragmentos. Em seguida, esses fragmentos são levados por uma correia a um reator cilíndrico vertical - conhecido também como retorta - para serem aquecidos em alta temperatura. O xisto libera então matéria orgânica em forma de óleo e gás. Em outra etapa, é resfriado, o que resulta na condensação dos vapores de óleo, que, sob a forma de gotículas, são transportados para fora da retorta pelos gases. Os gases de xisto passam por outro processo de limpeza para a obtenção do óleo leve. O restante é encaminhado para a unidade de tratamento de gases, onde são produzidos gás combustível e gás liquefeito (GLP) e onde é feita a recuperação do enxofre. Na Figura 2, é possível observar todo o processamento de óleo de xisto, desde a extração até a obtenção de derivados (PETROBRAS, 2012).

Figura 2. Diagrama esquemático do processo do xisto



(Fonte: PETROBRAS, 2012).

Em 2008, o volume de xisto processado pela PETROBRAS em São Mateus do Sul foi de 2,015 milhões de toneladas, o que resultou na produção de 155.691 m³ de óleo combustível, 37.725 m³ de nafta, 18.529 m³ de GLP, 13.087 toneladas de gás de xisto e 2.349 m³ de outras substâncias não energéticas. Em 2009, o volume de xisto processado pela PETROBRAS em São Mateus do Sul foi de 2,118 milhões de toneladas. Apesar do pequeno aumento do xisto bruto processado em relação a 2008 e que foi de 5,1%, os produtos obtidos aumentaram significativamente, e resultaram na produção de 270.576 m³ de óleo combustível (73,8% superior a 2008), 40.809 m³ de nafta (8,2% superior a 2008), 27.044 m³ de GLP (46% superior a 2008), 14.314 toneladas de gás de xisto (9,4% superior a 2008). A única exceção foi a produção de 1.548 m³ de outras substâncias não energéticas que teve produção 34,1% menor que 2008. Em 2010, o rendimento de derivados em relação à quantidade de xisto processado foi ainda maior, atingindo 0,16330 m³ de derivados por tonelada de

xisto processado contra 0,16053 m³ de derivado por tonelada de xisto de 2009 (ANP, 2012).

O xisto retornado constitui um resíduo do processamento do óleo do xisto e representa um grande problema para as indústrias produtoras desse rejeito (REINIKET *et al.*, 2011). Estudos têm mostrado que esse subproduto do processamento do óleo do xisto, é um adsorvente em potencial para remoção de compostos orgânicos e inorgânicos (ZHUET *et al.*, 1995).

Zhu *et al.*, (1988) utilizaram o xisto retornado para adsorção de piridina em soluções aquosas. Os autores observaram um efeito marcante dos cátions (Na, K, Ca e NH₄) lixiviados ou presentes na água de retorta do xisto no processo de adsorção, enquanto que os ânions mostraram um efeito muito menor. Os mesmos autores em 1995, também estudaram a adsorção de quinolina em xisto, com pH da solução 8, nesse estudo os cátions lixiviados ou da água de retorta (Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, K⁺, NH₄⁺) também mostraram um efeito considerável na adsorção desse composto, enquanto que o ânion sulfato apresentou um pequeno efeito e o ânion cloreto não apresentou nenhuma mudança no processo de adsorção.

Tuten *et al.*, (1997) utilizaram o xisto com ativação ácida para remoção de 2-clorofenol e 2,4 diclorofenol. O xisto ativado com ácido clorídrico apresentou capacidade de adsorção de 3,1 e 4,2 mg/g para o 2-clorofenol e 2,4 diclorofenol, respectivamente e ajustou-se ao modelo de adsorção de monocamadas de Langmuir. O estudo termodinâmico mostrou que a adsorção desses compostos no xisto é endotérmica e basicamente de caráter físico.

Al-Asheh *et al.*, (2003) estudaram a adsorção de fenol em xisto in natura, pirolisado e ativado termo e quimicamente. O xisto pirolisado foi preparado utilizando reator de leito fluidizado a 520 °C na presença de nitrogênio, a ativação física foi feita utilizando o xisto após a pirólise com CO₂ a 830 °C, enquanto a ativação química foi realizada com ativação do xisto utilizando KOH e ZnCl₂. O efeito do tempo de contato, concentração do adsorbato, pH e sais inorgânicos no processo de adsorção foram investigados. Através das cinéticas de adsorção os autores observaram uma maior capacidade de adsorção para o xisto ativado com ZnCl₂.

Shawabkeh *et al.*, (2004) estudaram a adsorção de cobre e zinco em cinza de xisto tratada com ácido clorídrico, sulfúrico, nítrico e fosfórico. As amostras tratadas com ácido nítrico mostraram maior capacidade de troca catiônica (146 meq/100g) enquanto que as que

foram tratadas com ácido clorídrico apresentaram uma menor capacidade (32 meq/100g).

Utilizando amostras de xisto, Stachiw *et al.*, (2007) mostraram que a capacidade de adsorção do fenol em xisto brasileiro, formação Irati, sem qualquer tipo de ativação, foi de 0,13 mg/g para o xisto retornado e 0,10 mg/g para o xisto retornado com adição de Pneu, avaliados pela constante de Freundlich.

Pimentel *et al.*, (2008) estudaram a adsorção em xisto retornado de Cu II em solução aquosa. O xisto utilizado nesse trabalho foi utilizado com tamanho de partícula de 75 µm, sem nenhum tratamento prévio. A eficiência da adsorção foi investigada através de parâmetros como: pH, temperatura, concentração inicial e tempo de contato, os mesmos autores também investigaram a adsorção de Pb²⁺ em xisto retornado nas mesmas condições do trabalho anterior, com uma boa capacidade de adsorção.

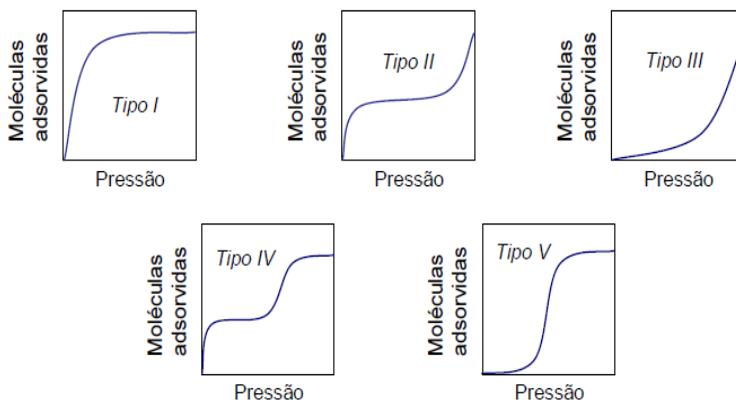
Pimentel *et al.*, (2010) investigaram a adsorção de metais pesados em xisto retornado. O xisto foi utilizado sem nenhum tratamento prévio e a granulometria escolhida no estudo foi < 75 µm. Os autores observaram uma capacidade de adsorção de 50-70% para Cr, Ni, Fe, Co, Cu e Zn e >90% para Hg e Pb.

Isotermas de adsorção

A análise das isotermas de adsorção é importante para o desenvolvimento de um modelo que pode ser usado para descrever o processo de adsorção, e as isotermas obtidas em diferentes temperaturas podem fornecer informações básicas para o estudo da termodinâmica de adsorção (LI *et al.*, 2010). Essas isotermas expressam a relação entre a massa de soluto adsorvido em uma determinada temperatura, pH, tamanho de partícula e concentração do soluto na fase líquida (SALEHI *et al.*, 2010).

Dependendo do sólido adsorvente, existem vários tipos de isotermas, sendo que a maioria pode ser agrupada em cinco tipos, que foram classificadas segundo Brunauer *et al.*, (1938) como mostra a Figura 3.

Figura 3. Isotermas de adsorção segundo a classificação de Brunauer *et al.* (1938).



A isoterma do tipo I pode ser limitada a poucas camadas moleculares, onde os poros excedem um pouco o diâmetro molecular do adsorvente. Isotermas do tipo II e IV são os tipos mais encontrados em medidas de adsorção, ocorrem em sistema não poroso ou com poros no intervalo de mesoporos ou macroporos. O ponto de inflexão da isoterma corresponde à ocorrência da formação da primeira camada adsorvida que recobre toda a superfície do material. Na isoterma do tipo IV indica a presença de microporos associados à mesoporos. Finalmente, isotermas do tipo III e V estão relacionadas a interações muito fracas em sistemas contendo macro e mesoporos.

Isoterma monocomponente

Existem várias equações de isotermas disponíveis para analisar os parâmetros de adsorção experimentais de equilíbrio monocomponente (NANDI *et al.*, 2009).

Isoterma de Langmuir

A equação da isoterma de adsorção de Langmuir é um dos modelos mais usados para descrever o comportamento de adsorção do adsorbato (LIU, 2006).

Segundo Abdullah *et al.*, (2009) o modelo de Langmuir é o mais simples modelo teórico e assume adsorção em monocamada sobre uma superfície com um número finito de sítios ativos idênticos. A equação é aplicável à adsorção homogênea, onde o processo de adsorção tem energia de ativação igual, com base nos seguintes pressupostos básicos:

- i) As moléculas são adsorvidas em um número finito de sítios ativos;
- ii) Cada sítio pode conter uma única molécula de adsorbato;
- iii) Todos os sítios são energeticamente equivalentes;
- iv) Não há interação entre as moléculas adsorvidas nos sítios vizinhos.

A isoterma de adsorção de Langmuir é representada pela Equação 1.

$$q_e = \frac{q_m K_L C_o}{1 + K_L C} \quad (1)$$

C_e (mg/L) e q_e (mg/g) são a concentração da fase líquida e a concentração da fase sólida do adsorbato no equilíbrio, respectivamente, q_m (mg/g) é a capacidade máxima de adsorção do adsorbente e K_L (L/mg) é a constante da isoterma de Langmuir (RAHCHAMANI *et al.*, 2011).

Um fator de separação adimensional ou parâmetro de equilíbrio R_L também é aplicado para revelar o tipo de isoterma e é definido pela Equação 2.

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_o} \quad (2)$$

Onde C_o é a concentração inicial (mg/L) e K_L (L/mg) é a constante do modelo de Langmuir. O comportamento da adsorção segundo Huang *et al.*, (2011) é:

- Para $R_L > 1$, desfavorável;
- Para $R_L = 1$ linear;
- Para $1 < R_L < 0$, favorável;
- Para $R_L = 0$, irreversível.

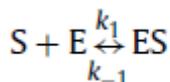
Cinética de adsorção

A investigação do mecanismo de adsorção e sua etapa limitante da velocidade incluem o transporte de massa e processos de reação química. Os modelos de adsorção cinéticos podem ser úteis para determinar o mecanismo de adsorção e a eficiência dos adsorventes para remoção de poluentes (NOURMORAD *et al.*, 2012).

Vários modelos podem ser usados para expressar o mecanismo de adsorção do soluto em um adsorvente (SALEHI *et al.*, 2010), entre eles estão:

Modelo cinético de Pseudo-primeira ordem

Quando uma única espécie é considerada para adsorção em uma superfície heterogênea, a adsorção de um soluto de uma solução aquosa segue uma cinética reversível de primeira ordem. O equilíbrio heterogêneo entre o soluto e solução é dado pela expressão (HOSSEINI BANDEGHARAEI *et al.*, 2010) :



Esse modelo assume que a taxa de adsorção do soluto com o tempo é diretamente proporcional à diferença de concentração de saturação e a quantidade de sólido adsorvido com o tempo, a equação de pseudo-primeira ordem é expressa pela Equação 4:

$$\frac{dq_t}{dt} = K_1(q_e - q_t) \quad (4)$$

onde q_t e q_e são a quantidades adsorvidas (mg/g) no tempo t e no tempo de equilíbrio, respectivamente, t é o tempo de adsorção (h). K_1 é a constante da velocidade de adsorção (L/h).

Através da integração da Equação 4, aplicando-se as condições de contorno $t=0, q_t=0$; $t=t, q_t=q_t$, tem-se a Equação 5 dada por:

$$\log [(q_e) - q_t] = \log q_e - \frac{k_1}{2,303} t \quad (5)$$

Através do gráfico de $\log (q_e - q_t)$ versus t é possível calcular os valores de q_e e k_1 (RAHCHAMANI *et al.*, 2011).

Modelo Pseudo-segunda ordem

O modelo de Pseudo-segunda ordem é baseado na suposição que a etapa limitante pode ser adsorção química envolvendo forças de valência através da partilha ou troca de elétrons entre adsorvente e adsorbato. O modelo assume que a capacidade de adsorção é proporcional ao número de sítios ativos acupados no adsorvente (UGURLU e KARAOGULU, 2011), esse modelo é representado pela Equação 6.

$$\frac{dq_t}{dt} = K_2(q_e - q_t)^2 \quad (6)$$

Integrando a Equação 6 nos mesmos limites da Equação 4 ela pode ser apresentada na forma da Equação 7.

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{K_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (7)$$

Onde q_t e q_e são a quantidades adsorvidas (mg/g) no tempo t e no tempo de equilíbrio, respectivamente, t é o tempo de adsorção (h), K_2 é a constante da velocidade de adsorção (g/mg h). Graficando-se t/q_t versus t , é possível encontrar os valores de q_e e K_2 . A velocidade de adsorção inicial, h (mg. g⁻¹. h⁻¹) pode ser calculada pela Equação 8.

$$h = K_2 q_e^2 \quad (8)$$

Modelo de difusão intrapartícula

O transporte do adsorbato da solução para a superfície de partícula do adsorvente se dá em várias etapas. O processo de adsorção pode ser controlado por qualquer uma dessas várias etapas, ex. difusão externa ou no filme, difusão no poro, difusão na superfície e adsorção na

superfície do poro. O modelo de difusão intrapartícula é expresso pela Equação 9.

$$q_t = K_{in} t^{\frac{1}{2}} \quad (9)$$

Onde K_{in} é a constante de difusão intrapartícula ($\text{mg/g (h}^{1/2})^{-1}$). A velocidade de difusão intrapartícula é obtida através do gráfico de q_t versus $t^{1/2}$ (YIN *et al.*, 2010).

Biodegradação

O processo biológico, também é uma das melhores tecnologias disponível para o tratamento de águas residuais industriais.

O tratamento biológico também conhecido como biorremediação, é uma eficiente ferramenta para transformação das substâncias tóxicas em compostos menos ou não-tóxicos (MOZO *et al.*, 2012). Os processos biológicos são considerados uma tecnologia promissora e limpa, especialmente por causa da sua simplicidade, baixo custo e eficácia quando comparado a outras alternativas (MAZZEO *et al.*, 2010). Ao contrário de outros processos, a biodegradação elimina os contaminantes sem dispersá-los através dos meios. Os produtos finais desta degradação são dióxido de carbono, água e biomassa microbiana.

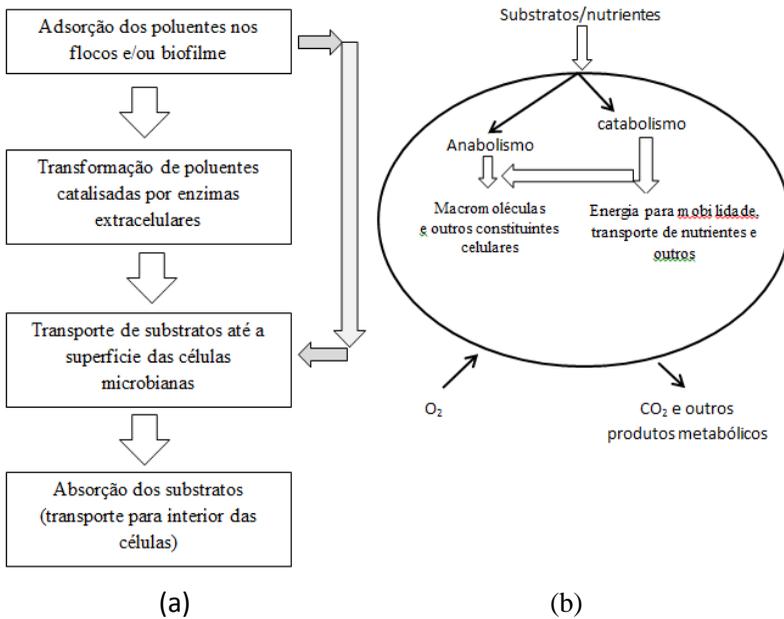
Uma das etapas mais importantes do tratamento biológico consiste na biodegradação dos poluentes orgânicos presentes na fase aquosa. A remoção da matéria orgânica é a finalidade maior dos processos de tratamento, em decorrência da magnitude do impacto causado pelos poluentes orgânicos nos sistemas hídricos. Assim, a retirada desses poluentes é um dos passos relevantes de qualquer sequência de tratamento, que visa devolver aos corpos receptores, água já utilizada e tratada com melhor qualidade possível. Os poluentes são primeiramente adsorvidos nas superfícies dos aglomerados microbianos. Essa remoção é de natureza físico-química. A seguir, dependendo das características da molécula poluente, ela poderá sofrer hidrólise ou outras transformações catalisadas por enzimas excretadas pelo micro-organismo (flocos, filmes e/ou grânulos). Somente quando essas moléculas já sofrerem as transformações pertinentes é que elas podem ser absorvidas pelas células microbianas, sendo então metabolizadas. No interior das células, as moléculas absorvidas podem se inserir nas rotas

de catabolismo, que geram energia para as atividades celulares ou nas rotas de anabolismo, responsáveis pela biossíntese das moléculas essenciais ao funcionamento das células (JUNIOR, 2013).

A energia e as estruturas moleculares aproveitadas permitem a produção de novas células (biomassa), de CO_2 (CO_2 e metano no caso dos processos anaeróbios) e a ocorrência de pequeno acúmulo de produtos de metabolismo na fase aquosa. No caso dos processos aeróbios é necessário o aporte de oxigênio para suprir as necessidades do consórcio microbiano (JUNIOR, 2013).

A Figura 4 (a) e (b) ilustra, respectivamente, as etapas envolvidas na remoção de poluentes orgânicos da fase aquosa, e na biodegradação, pela via aeróbia, das substâncias assimiladas pelas células bacterianas.

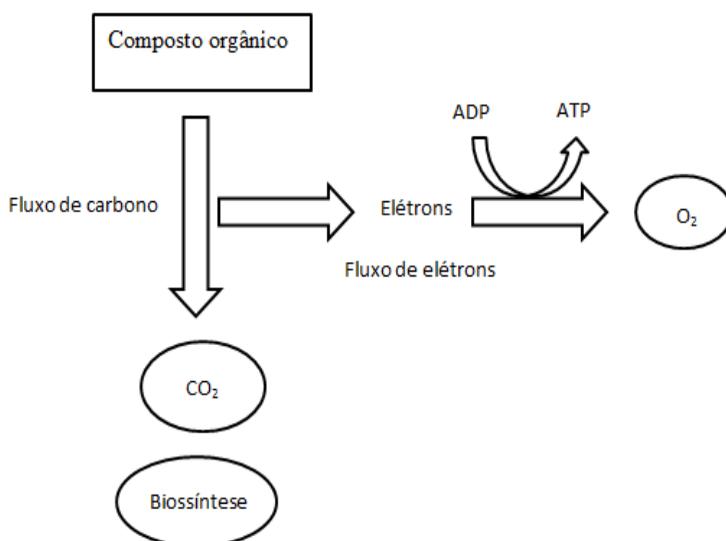
Figura 4. Etapas envolvidas na remoção de poluentes orgânicos da fase aquosa (a), e na biodegradação, pela via aeróbia, das substâncias assimiladas pelas células bacterianas (b).



Biodegradação aeróbia

O metabolismo aeróbio corresponde ao mecanismo mais favorecido energeticamente pelos micro-organismos que oxidam compostos orgânicos. O oxigênio é preferencialmente utilizado como aceptores de elétrons no metabolismo (TRIGUEIROS, 2008). A degradação aeróbia pode ser conceituada como um processo de respiração aeróbia, no qual as moléculas de substrato (poluentes biodegradáveis absorvidos pelas células) são oxidadas a CO_2 utilizando-se, no sistema de transporte de elétrons o oxigênio molecular como receptor ouceptor final. Nesse tipo de metabolismo, as moléculas de substrato podem ser oxidadas completamente a CO_2 e um maior rendimento de ATP pode ser teoricamente obtido, o que permite disponibilizar energia para a multiplicação celular. Neste caso oceptor final de elétrons tem um potencial de oxirredução bem positivo, assegurando uma grande diferença de potencial entre o doador e o receptor final, o que favorece a síntese de ATP (JUNIOR, 2013). A Figura 5 ilustra os fluxos de carbono e de elétrons na respiração aeróbia.

Figura 5. Fluxos de carbono e de elétrons na respiração aeróbia.



Micro-organismos

O termo micro-organismo foi cunhado para designar os inúmeros organismos, que somente são visíveis com auxílio de microscópios. Os micro-organismos apresentam organização celular simples (unicelulares e multicelulares) e desempenham papel importantíssimo na reciclagem dos nutrientes no meio ambiente. Do ponto de vista da tecnologia ambiental, asseguram a degradação de inúmeros poluentes sendo os agentes principais dos chamados *processos biológicos de tratamento de efluentes* (JUNIOR, 2013). A diversidade microbiana é fator de sucesso do tratamento biológico. Os efluentes contêm inúmeras substâncias (poluentes) em variados níveis de concentração. A biodegradação dessas substâncias se fará de modo mais rápido e efetivo se, na comunidade microbiana, estiverem presentes diferentes linhagens com afinidades diferenciadas por essas substâncias (MOZO *et al.*, 2012).

Imobilização de células

O sistema com células imobilizadas tem como principal característica o uso de alguma estrutura física de confinamento e que obriga as células a permanecerem em uma região particular de um biorreator.

A imobilização é geralmente conseguida através do contato de um material utilizado para a imobilização com células vivas que se pretende imobilizar sob condições ambientais controladas. O material utilizado para imobilização é denominado suporte.

As principais características de um suporte para a imobilização de células vivas são as seguintes (SCHMIDELL *et al.*, 2001):

- Não toxidez às células;
- Alta capacidade de retenção;
- Resistência ao ataque químico e microbiano;
- Poucas possibilidades às possíveis solicitações mecânicas, seja de compressão por peso, de tensões de cisalhamento ou eventuais pressões interna e externa de gases;
- Alta difusividade de substratos e produtos.

A imobilização das células pode ser conseguida por diferentes métodos: ligação covalente, reticulação, retenção física e processo

natural de adesão. Essa técnica foi demonstrada para oferecer vantagens óbvias sobre os sistemas biológicos convencionais que utilizam células em suspensão. A imobilização tem várias vantagens, tais como o aumento da taxa de biodegradação através de um crescimento maior de células, proteção de micro-organismos frente às condições ambientais adversas, permitindo uma maior densidade de biomassa, proporcionando uma maior oportunidade de reutilização e valorização e reduzindo o volume do reator (TSEKOVA *et al.*, 2010, FAISAL e ILLIAS, 2015).

Vários suportes têm sido usados para a imobilização de micro-organismos na biodegradação dos BTEX. Tsai *et al.*, (2013) utilizaram bolas de gel de PVA-alginato fosforilada, para imobilização de *Pseudomonas sp.* YATO411 isoladas, utilizando MTBE (Éter metil terc-butílico) e BTEX (Benzeno, tolueno, etilbenzeno, xilenos) como única fonte de carbono. El Naas *et al.*, (2013) estudaram as características e viabilidade do álcool polivinílico como um material suporte para imobilização da biomassa. O estudo revelou que a estrutura porosa e as propriedades mecânicas do PVA dependiam fortemente do processo de reticulação e da composição do PVA. Robledo-Ortiz' *et al.*, (2011) investigaram a degradação de BTX por *P. putida* F1 imobilizada em compósitos de espuma de fibra-sisal/polímero (AFPFC) e culturas suspensas em condições controladas. Análises mostraram que a *P. putida* aderiu à superfície do compósito e desenvolveu o biofilme.

Biodegradação dos BTEX

Os processos biológicos têm sido usados efetivamente como amigo do meio-ambiente com menor custo para o tratamento de compostos orgânicos voláteis (VOCs). Os micro-organismos são importantes no processo biológico. Eles têm a capacidade fisiológica e metabólica de ser altamente eficaz na remoção de poluentes. Um grande número de micro-organismos incluindo bactérias, fungos e algas são capazes de degradar compostos BTEX (EL-NASS *et al.*, 2014).

A capacidade de degradação de compostos BTEX de certos micro-organismos é conhecida desde 1908, quando Stormer observou a capacidade da bactéria *Bacillus hexaborum* de crescer aerobiamente em meio contendo tolueno e xileno. A capacidade dos micro-organismos naturais do solo na degradação de compostos BTEX foi demonstrada pela primeira vez por Gray e Thornton em 1928, demonstrando a

capacidade de micro-organismos, encontrados naturalmente no solo, para degradar compostos BTEX (MAZZEO *et al.*, 2010).

As bactérias do gênero *Pseudomonas*, *P. putida* é o gênero de bactéria mais comum empregado na degradação de hidrocarbonetos aromáticos. *P. putida* é uma bactéria gram negativa capaz de metabolizar compostos BTEX e outros compostos aromáticos como a única fonte de carbono e energia (MAZZEO *et al.*, 2010). A cepa demonstra um metabolismo diverso, e que não é patogênica em relação a outras espécies. A Tabela 5 mostra diferentes micro-organismos aeróbios já estudados na degradação dos BTEX.

Tabela 5. Micro-organismos aeróbios já estudados na degradação dos BTEX.

| Micro-organismo | Substrato | Referência |
|--|---|--------------------------------|
| <i>Rhodococcus rhodochrous</i> | BTEX | DEEB <i>et al.</i> , 1999 |
| <i>Alcaligenes xylosoxidans Y234</i> | Benzeno, tolueno e fenol | YEOM <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>Rhodococcus sp. DK17</i> | BTE, fenol, isopropilbenzeno e outros isômeros alquilbenzeno. | KIM <i>et al.</i> , 2002 |
| <i>Pseudomonas putida</i> | BTEX | ATTAWAY <i>et al.</i> , 2002. |
| <i>Pseudomonas putida</i> | BTE (o)X | SHIM <i>et al.</i> , 2002. |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> | BTE (o)X | SHIM <i>et al.</i> , 2002. |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Benzeno | KIM <i>et al.</i> , 2003 |
| <i>Pseudomonas putida F1 ATCC 700007</i> | BT, fenol | ABUHAMED <i>et al.</i> , 2004 |
| <i>Pseudomonas putida F1</i> | BT | ALAGAPPAN <i>et al.</i> , 2004 |
| <i>Burkholderia (Ralstonia) pickettii PKO1</i> | BT | ALAGAPPAN <i>et al.</i> , 2004 |
| <i>Rhodococcus pyridinovorans PYJ-1</i> | Benzeno, tolueno e m-xileno | JUNG <i>et al.</i> 2004 |

| | | |
|--|------------------|---------------------------------|
| <i>Pseudomonas putida</i> CCMI 852 | BTX | OTENIO <i>et al.</i> , 2005. |
| <i>Achromobacter</i> <i>xylooxidans</i> | BTEX | NIELSEN <i>et al.</i> , 2006 |
| <i>Pseudomonas spp.</i> | BTX | JEAN <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Pseudoxanthomonas</i> <i>spadix</i> BD-a59 | BTE o,m,p xileno | KIM <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Alcaligenes</i> (<i>Achromobacter</i>) <i>xylooxidans</i> | BTX | SHAHNA <i>et al.</i> , 2010 |
| <i>Pseudomonas sp.</i> (YATO411) | BTEX | LIN <i>et al.</i> , 2012 |
| <i>Mycobacterium sp.</i> (CHXY119) | BTEX | LIN <i>et al.</i> , 2012 |
| <i>Pseudomonas putida</i> YNS1 | BTEX | YOU <i>et al.</i> , 2013 |
| <i>Bacillus sphaericus</i> (MTCC 8103) | BTEX | RAHUL <i>et al.</i> , 2013 |
| <i>Mycobacterium</i> <i>cosmeticum</i> byf-4 | BTE (o-)X | ZHANG <i>et al.</i> , 2013 |

Mecanismo de biodegradação dos BTEX

Os compostos BTEX são altamente receptivos aos ataques microbianos e a degradação ocorre principalmente sob condições aeróbicas. O processo requer oxigênio dissolvido (OD) para utilizar tanto para a ativação do anel e clivagem do núcleo aromático, como o aceptor de elétrons para a sua completa degradação por bactérias, fungos ou algas. Os compostos aromáticos podem somente ser considerados degradados se o anel sofrer clivagem (EL-NASS *et al.*, 2014). As vias metabólicas para a degradação dos compostos BTEX são provenientes de dois sistemas enzimáticos: dioxigenases e monooxigenases. A monooxigenases ataca os substituintes metil e etil do anel aromático, que são subsequentemente transformados por várias oxidações para seu substituto correspondente, pirocatecol ou fenil glioxal. A dioxigenase ataca o anel aromático com formação de compostos com dois grupos hidroxil substituídos (KHAN *et al.*, 2001). O primeiro passo da oxidação do benzeno é a hidroxilação catalisada pela dioxigenase. A presença do grupo substituinte no anel benzênico permite dois possíveis mecanismos: ataque das cadeias laterais ou oxidação do anel aromático.

Todas essas vias convergem em um intermediário catecol. Para o benzeno, o principal produto intermediário é o catecol, enquanto que o tolueno e o etilbenzeno são degradados por vias separadas levando a formação de seus respectivos intermediários principais, 3-metilcatecol e 3-etilcatecol. Xilenos são todos metabolizados para catecol mono-metilados; por exemplo, m-xileno é degradado para 3-metilcatecol (EL NAAS *et al.*, 2014).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os equipamentos e materiais utilizados para a realização deste trabalho de pesquisa, bem como os procedimentos experimentais adotados, estão apresentados separadamente de acordo com os experimentos realizados. Primeiramente serão apresentados para os experimentos de adsorção realizados e logo em seguida, serão apresentados os materiais e métodos utilizados para os experimentos de biodegradação.

Todos os ensaios experimentais foram realizados no Laboratório de Transferência de Massa – LABMASSA – do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

3.1. EXPERIMENTOS DE ADSORÇÃO

3.1.1 Adsorbatos

Os adsorbatos utilizados nesse estudo foram os compostos orgânicos: benzeno, tolueno, etilbenzeno, marca VETEC, e *o*-xileno da marca ALDRICH. Esses compostos foram escolhidos, pois são os poluentes mais representativos no efluente da indústria petroquímica, por serem os compostos orgânicos mais hidrossolúveis do petróleo.

3.1.2 Adsorvente

O xisto utilizado neste trabalho foi proveniente da SIX (Superintendência da Industrialização do Xisto), unidade de negócios da PETROBRAS. Esse xisto é o subproduto do processo PETROSIX/PETROBRAS, e é chamado xisto retornado.

3.1.3 Solventes

Os solventes utilizados para realização desse trabalho foram água MiliQ e metanol série Gold da marca Carlo Erba, utilizados para construção das curvas de calibração. Água destilada foi utilizada para o preparo das soluções de compostos BTEX para os testes de adsorção, bem como para a preparação do meio para os diferentes tratamentos realizados no adsorvente utilizando os reagentes listados na Tabela 7.

Tabela 6. Reagentes utilizados para ativação do xisto retornado.

| Reagente | Marca |
|-----------------------------|--------------------|
| Ácido sulfúrico | Synth |
| Ácido nítrico 65% | Merck |
| Ácido acético glacial | Biotec |
| Ácido clorídrico | Nuclear |
| Hidróxido de amônio 28-30% | Neon |
| Hidróxido de sódio | Neon |
| Tergitol | Vetec Química Fina |
| Brometo de cetil trilamônio | Vetec Química Fina |
| Dodecil sulfato de sódio | Vetec Química Fina |

3.1.5 Caracterização física do adsorvente

3.1.5.1 Tamanho de partícula

Todos os solos, em sua fase sólida, contêm partículas de diferentes tamanhos e em proporções das mais variadas. A determinação do tamanho das partículas e suas respectivas porcentagens de ocorrência permitem obter a função distribuição de partículas do solo e que é denominada distribuição granulométrica. A determinação do tamanho da partícula foi realizada através do processo de peneiramento, colocando-se 1000 g de xisto retornado em peneiras com abertura padrão MESH TYLER, as quais são mecanicamente agitadas por no mínimo 15 min. O agitador de peneiras utilizado é da marca MINOR ENDECOTTS. Então o xisto retornado retido em cada peneira foi separado e armazenado. A Tabela 8 apresenta o tamanho nominal das peneiras utilizadas.

Tabela 7. Abertura das peneiras utilizadas na separação granulométrica do xisto retornado

| Tamanho nominal (MESH) | Tamanho da abertura (mm) |
|-------------------------------|---------------------------------|
| 50 | 0,30 |
| 30 | 0,60 |
| 18 | 1,00 |
| 14 | 1,40 |
| 10 | 2,00 |
| 8 | 2,36 |

3.1.6 Caracterização química do adsorvente

3.1.6.1 Determinação de Grupos Funcionais de Superfície

A existência de grupos funcionais é de fundamental importância uma vez que muitos deles atuam como sítios ativos para diferentes tipos de adsorbatos. Os grupos funcionais da superfície do xisto retornado foram identificados através dos espectros de absorção na região do infravermelho (FTIR). A espectrometria de infravermelho é um método que se baseia na propriedade que determinada molécula tem de absorver radiações eletromagnéticas na região do infravermelho. Para que uma molécula absorva radiação na região do infravermelho, ela precisa sofrer uma variação no momento dipolo, como consequência do movimento vibracional ou rotacional, apenas nessas condições o campo elétrico alternado da radiação pode interagir com a molécula e causar variações na amplitude de um de seus movimentos. Se a amostra absorve radiação no infravermelho, o espectro apresenta bandas devidas aos modos de vibrações de estiramento e de deformações das ligações moleculares resultantes da excitação causada pela radiação incidente (NAKOTO, 1997).

3.1.7 Caracterização Textural do Adsorvente

3.1.7.1 Área superficial

Para calcular a área superficial dos adsorventes, utiliza-se a isoterma de adsorção B.E.T. Criado em 1938, por Brunauer, Emmett e Teller, o método é baseado na determinação do volume de nitrogênio adsorvido a diversas pressões na temperatura do nitrogênio líquido, empregando no cálculo uma equação por eles deduzida, que permite, a partir de algumas experiências, determinar o volume de nitrogênio necessário, para formar uma camada monomolecular sobre o material adsorvido. A equação de B.E.T. foi desenvolvida com o objetivo de relacionar valores obtidos a partir das isotermas de adsorção com a área específica de um sólido. Para tal, obtém-se o volume da monocamada, através do volume de gás adsorvido, a uma determinada pressão. A relação linear só é obedecida, para a maioria dos sistemas adsorvente/adsorbato, na faixa de valores de pressão relativa entre 0,05-0,35. O valor máximo dessa faixa determina o ponto onde começa a formação de camadas múltiplas (LUZ, 2009).

3.1.7.2 Distribuição e volume total de poros

A caracterização do sólido é um parâmetro importante no estudo de sua capacidade adsorviva. Os dois métodos mais utilizados na determinação da distribuição do tamanho médio de poros são a técnica de porosimetria por intrusão de mercúrio, que usa mercúrio líquido e o método de adsorção de nitrogênio, o qual foi utilizado neste trabalho. A adsorção de nitrogênio é indicada para determinação da distribuição de tamanho de poro em materiais mesoporos, isso pode ser feito a partir de isotermas de adsorção e dessorção.

Em 1951, Barret, Joyner e Halenda, propuseram um método matemático denominado BJH que é utilizado no cálculo da distribuição dos tamanhos de poro. O método utiliza a equação de Kelvin e assume o esvaziamento progressivo dos poros cheios de líquidos com o decréscimo da pressão. Para cada decréscimo de pressão, pode-se então relacionar o volume de gás dessorvido com o diâmetro obtendo-se um diagrama de volume de gás *versus* diâmetro de poro, que caracteriza a distribuição de tamanhos de poro.

3.1.8 Caracterização morfológica

3.1.8.1 Microscopia eletrônica de varredura

O Microscópio Eletrônico de Varredura, MEV (Scanning Electron Microscope, SEM) é um equipamento que permite a obtenção de informações estruturais e químicas de amostras diversas. Ele é capaz de produzir imagens de alta ampliação e resolução, mostrando o formato de partículas diversas. Um feixe fino de elétrons de alta energia incide na superfície da amostra onde, ocorrendo uma interação, parte do feixe é refletida e coletada por um detector que converte este sinal em imagem de BSE (ou ERE) – imagem de elétrons retroespalhados – ou nesta interação a amostra emite o elétron produzindo a chama imagem de ES (elétrons secundários). Ocorre também a emissão de raios-X que fornece a composição química elementar de um ponto ou região da superfície, possibilitando a identificação de praticamente qualquer elemento presente (LUZ, 2009).

3.1.9 Tratamentos do adsorvente

Com o objetivo de aumentar a capacidade de adsorção do adsorvente em estudo, foram realizados diferentes tipos de tratamentos.

3.1.9.1 Tratamento ácido

Para ativação ácida do xisto retornado foram utilizados 5 g do adsorvente para 100 mL de solução de cada ácido (Ácido sulfúrico, Nítrico, Acético, Fosfórico e Clorídrico), na concentração de 1M e colocado sob agitação de 120 rpm em orbital marca TECNAL modelo TE-0532, durante 24 h, a uma temperatura de 60 °C. Após o tempo de agitação, a mistura foi filtrada e o adsorvente lavado com água destilada até alcançar pH 6. Após a lavagem, o adsorvente foi seco em estufa MARCONI modelo MA035 a 100 °C durante 24 h e resfriado em dessecador.

Para o tratamento com ácido nítrico, foi realizado após o procedimento descrito acima, um tratamento térmico, onde 3 g do xisto, já tratado com esse ácido, foram colocados em forno mufla marca EDG modelo F-3000, durante 2 h a uma temperatura de 900 °C e resfriado em dessecador.

3.1.9.2 Tratamento com base

Para o tratamento alcalino, 100 mL de soluções de hidróxido de sódio e hidróxido de amônio nas concentrações de 0,5 M foram colocadas em contato com o adsorvente em erlenmeyer de 250 mL numa concentração de 50 g/L sob agitação a uma velocidade de 120 rpm durante 24 h. Após esse tempo, a mistura foi filtrada, a fim de se separar o adsorvente da solução básica, e o mesmo foi lavado até alcançar pH 6. Após a lavagem o produto da ativação foi colocado em estufa MARCONI modelo MA035 durante 24 h a uma temperatura de 100 °C e resfriada em dessecador.

3.1.9.3 Tratamento térmico

Em atmosfera oxidante

O tratamento térmico foi realizado em forno mufla marca EDG modelo F-3000. O xisto foi submetido a duas temperaturas diferentes de 500 °C e 900 °C, durante um tempo de 2 h. Após esse tempo a amostra foi resfriada em dessecador e armazenada.

Em atmosfera de nitrogênio

O tratamento do xisto retortado em atmosfera de nitrogênio foi realizado no LEMA – Laboratório de Energia e Meio Ambiente da Universidade Federal de Santa Catarina. Os experimentos foram conduzidos em um forno tubular MOD DI-600RP (DIST) com uma potência de 2300 W, com máxima temperatura do forno de 1150 °C. Para as taxas de aquecimento foi usado um controle de temperatura digital microprocessador PID e um reator tubular horizontal de quartzo. Nitrogênio foi usado como gás de arraste, sendo sua vazão controlada por um rotâmetro (OMEL). Uma massa de 3 g de xisto retortado foi colocada no reator sob fluxo de nitrogênio de 400 mL/min durante o tempo de 30 min a uma temperatura de 600 °C. Após o tratamento o xisto foi resfriado em dessecador e armazenado.

3.1.9.4 Tratamento com surfactantes

Para o preparo do xisto modificado com surfactante, foram utilizados três tipos de surfactantes: Tergitol (não iônico), Brometo de Cetil trilamônio (catiônico) e Dodecil sulfato de sódio (aniônico). Soluções de 1 mol/L de cada surfactante foram preparadas e 100 mL dessa solução colocadas em contato com 5 g do xisto em erlenmeyer de 250 mL, sob agitação de 120 rpm em orbital marca TECNAL modelo TE-0532 durante 48 h a temperatura de 25 °C. Após esse tempo a mistura foi filtrada, lavada com água destilada, seca em estufa MARCONI modelo MA035 colocada em dessecador para resfriamento e armazenada.

3.1.10 Testes de adsorção

Foram realizados experimentos de adsorção com o objetivo de otimizar algumas condições experimentais do processo como: granulometria do adsorvente, pH da solução, massa de adsorvente utilizada, diferentes tratamentos realizados com o xisto retortado. Todos os testes foram realizados somente com o composto tolueno, em virtude de sua menor toxicidade e maior solubilidade em água, com volume de solução de 275 mL na concentração inicial de 56 mg/L e em duplicata. As relações de concentração de tolueno e volume de solução/massa de adsorvente utilizados nos testes foram baseadas no trabalho de Luz (2012). A quantificação do tolueno remanescente na solução após o tempo de adsorção foi realizada através da retirada de uma alíquota de 0,5 mL e analisada seguindo-se o procedimento citado na seção 3.3.5. A massa do tolueno adsorvida foi calculada segundo a Equação 10. Os

resultados obtidos foram submetidos à análise de variância com aplicação do teste F. Quando o valor de F foi significativo em nível de 5%, a análise estatística teve continuidade através do teste de Tukey. Para o tratamento estatístico foi utilizado o software Statistica® versão 6.

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m} \quad (10)$$

onde q_e é a concentração do adsorbato adsorvido no adsorvente (mg/g) na condição de equilíbrio, C_0 é a concentração inicial do composto (mg/L), C_e é a concentração de equilíbrio na solução (mg/L), m é a massa do adsorvente (g) e V é o volume da solução (L).

Para todos os testes de adsorção foram utilizados erlenmeyer de 250 mL com boca esmerilhada e tampa de teflon, para garantir a vedação do sistema.

3.1.10.1 Influência da granulometria do adsorvente

Para os testes de adsorção variando-se a granulometria do adsorvente, foram adicionados em erlenmeyer, 275 mL de uma solução de Tolueno (56 mg/L), 1,0 g do adsorvente com granulometria de 50, 30, 18, 14, 10 e 8 MESH e o sistema colocado sob agitação de 120 rpm por 24 h.

3.1.10.2 Influência do pH

O efeito do pH sobre o fenômeno de adsorção do tolueno em xisto retornado foi estudado através do ajuste do pH da solução de tolueno através da adição de HCl e NaOH (0,1 M). As adsorções foram testadas em pH ácido, natural e básico nos valores de 1,69, 6 e 11,29 respectivamente. Após a adição de 1,0, com precisão de 0,0001g, do xisto retornado *in natura*, na granulometria na faixa de MESH 14-18, em erlenmeyer contendo 275 mL de solução de tolueno (56 mg/L) o pH da solução foi ajustado nos valores de interesse. Após a adição do adsorvente foi mantido o pH no valor constante, agitado a 120 rpm durante 24 h.

3.1.10.3 Influência da massa de adsorvente

Para avaliação da influência da massa do adsorvente sobre o processo de adsorção, diferentes massas de adsorventes: 0,3, 0, 5,1, 3, 5 e 6 g do xisto retortado foram contatados com 275 mL da solução de tolueno e colocados sob agitação de 120 rpm durante 24 h.

3.1.10.4 Influência de diferentes tratamentos

Para os testes de adsorção utilizando o xisto com os diferentes tratamentos, pesou-se 1,0 g do adsorvente com precisão de 0,0001g para cada tratamento realizado, e colocou-se em erlenmeyer com 275 mL de solução de tolueno (56 mg/L). O sistema foi deixado sob agitação de 120 rpm durante 24 h.

3.1.11 Cinética de adsorção em batelada

A cinética de adsorção é um procedimento importante para análise do tempo em que o adsorvente atinge a completa saturação em uma determinada condição. Com o objetivo de eliminar a umidade, o xisto utilizado como adsorvente foi previamente seco em estufa marca MARCONI modelo MA035 a 100 °C até peso constante. Para construção das cinéticas foi pesado em uma balança analítica da marca SHIMADZU modelo AW 220 1,0 g do xisto com precisão de 0,0001 g e adicionado em um erlenmeyer com tampa de teflon contendo 275 mL de solução de concentração 60 mg/L, agitadas a 120 rpm na temperatura de 23 °C e retiradas alíquotas de 0,5 mL em intervalos regulares de tempo.

3.1.12 Isotermas de adsorção

Os estudos de equilíbrio termodinâmico entre o adsorvente e o adsorbato em batelada, foram realizados para os compostos isoladamente e multicomponente. Os ensaios foram realizados através do contato de 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 e 0,3 g do xisto, pesados com precisão de 0,0001 g em balança analítica marca SHIMADZU modelo AW 220, com 275 mL de uma solução de 40 mg/L de cada composto em erlenmeyer de vidro com tampa de teflon a uma temperatura de 23 °C e agitados em shaker marca Dist a 120 rpm.

3.2 EXPERIMENTOS BIODEGRADAÇÃO

3.2.1 Material utilizado para imobilização da biomassa

O material utilizado como suporte para imobilização da biomassa foi o xisto retornado, o mesmo utilizado para os ensaios de adsorção. A granulometria utilizada desse suporte para imobilização da biomassa foi de 1 – 1,40 mm.

3.2.2 Compostos orgânicos

Os compostos orgânicos selecionados como fonte de carbono para os micro-organismos foram os mesmos citados no item 3.1.1.1.

3.2.3 Solução Macro e Micronutriente

A solução de nutrientes, designada de meio mineral, era composta de: $\text{MgSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (464 mg/L), K_2HPO_4 (500 mg/L), KH_2PO_4 (500 mg/L), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (500 mg/L), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (9,8 mg/L), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (10 mg/L), $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (8 mg/L), $208 \text{ ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (2 mg/L), H_3BO_3 (1 mg/L), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mg/L). Todos os reagentes foram pesados em uma balança analítica da marca Shimadzu modelo AW 220 e após, dissolvidos em água destilada. Como fonte de oxigênio, utilizou-se H_2O_2 (30 μL), numa concentração de 30% em massa, nos biorreatores em batelada medido com pipetas de precisão da marca Eppendorf de 100 μL . O pH da solução do meio mineral foi 7,0.

3.2.4 Inóculo

Os reatores foram inoculados com biomassa aeróbia procedente da Estação de Tratamento de Esgoto Municipal de Florianópolis (CASAN), do bairro Lagoa da Conceição.

3.2.5 Concentração de Oxigênio

A concentração de oxigênio dissolvido no meio foi medida com o auxílio de um oxímetro digital (WTW - modelo OXI 340i/SET).

3.2.6 pH

Para a medida do pH, foi utilizado um pHmetro (Quimis - modelo Q-400M2).

3.2.7 Quantificação da Biomassa

A biomassa aderida ao xisto (quantificada de modo a se obter a massa de biomassa por partícula de xisto) foi analisada em termos de concentração de proteínas, através do método de Lowry, conforme metodologia proposta por Bergamasco (1996). As leituras das análises de proteínas foram realizadas em um Espectrofotômetro (Marca Shimadzu – modelo UV mini 1240). A agitação da amostra se procedeu com Ultrassom (Unique – modelo USC 1450). A metodologia utilizada para a quantificação da biomassa encontra-se no Apêndice I

3.2.8 Exames Microbiológicos

Foram coletadas amostras no reator em batelada e amostras do xisto “virgem”, e estas foram examinadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC – utilizando-se um microscópio de varredura convencional Philips modelo XL 30, com filamento de tungstênio, com magnificação de 25x a 300000x, com resolução alta tensão de 3nm e baixa tensão de 4nm, equipado de EDS (Sistema de Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X). As amostras foram preparadas segundo metodologia proposta por Nation (1983) e adaptada para biofilmes microbianos por Araujo *et al.* (2003), que é o método de secagem por hexametildissilazana (HMDS) descrito abaixo:

Primeiramente, foi realizada a fixação das amostras com uma solução de glutaraldeído 2,5% em Tampão Fosfato 0,1 M, pH 7,3, gelado. A solução Tampão de Fosfato 0,1 M pH 7,3 foi obtida pela mistura de 19,2 mL da solução de NaH_2PO_4 0,1 M (1,2 g/100 mL) com 80,8 mL da solução de Na_2HPO_4 0,1 M (1,42 g/100 mL). Para o preparo da solução (Tampão Fosfato 0,1 M (pH 7,3) mais solução 2,5 % de glutaraldeído) foi adicionado 2,5 mL de glutaraldeído em solução 0,1 M de Tampão Fosfato até completar 100 mL em balão volumétrico. As amostras foram colocadas por 12 h à temperatura de 4°C em solução Tampão Fosfato 0,1 M pH 7,3 mais glutaraldeído. Decorrido esse período, procedeu-se à lavagem das amostras por 3 vezes, com Tampão Fosfato 0,1 M, pH 7,3, sendo 10 minutos a duração de cada lavagem.

Em seguida, as amostras foram desidratadas gradualmente em álcool etílico nas concentrações de 50, 70, 80, 90, 95% e, por último, lavadas 3 vezes em álcool etílico 100% (grau PA). Cada operação de desidratação teve a duração de 10 minutos. Após a desidratação, as amostras foram imersas duas vezes em hexametildissalazano por 30 segundos cada, e por fim, as amostras foram aderidas aos suportes de MEV e transferidas para a estufa, a uma temperatura de 30°C, por 2 h para, posteriormente, serem submetidas ao recobrimento com ouro utilizando o aparelho Sputter Coater SCD 005 da BAL-TEC também do LCME.

3.2.9 Identificação dos Micro-organismos – Análises de Biologia Molecular

A identificação dos micro-organismos presentes no biofilme utilizado no processo de biodegradação dos compostos BTEX, foi realizada pela empresa Neopropecta - Microbiome Technologies, localizada na Avenida Luiz Boiteux Piazza, 1302 – Canasvieiras - Florianópolis – SC. A metodologia utilizada pela empresa para a identificação, encontra-se no Anexo I.

3.2.10 Imobilização da Biomassa

A imobilização foi realizada segundo a metodologia de Mello, (2012). Para a imobilização foi utilizada partículas de xisto, na granulometria média de 1-1,40 mm, adicionando-se 100 mL de lodo aeróbio utilizado como inóculo em erlenmeyers contendo 30 gramas de xisto seco e 150 mL de solução de meio mineral. Foram adicionados também 180 mg/L de glicose como fonte de carbono e 30 µL de peróxido de hidrogênio (como fonte de oxigênio). Foram montados 10 biorreatores que foram agitados em uma Incubadora Shaker (Logen Scientific – modelo LS 4500), à temperatura ambiente, durante todo o experimento, com o objetivo de melhor homogeneizar o meio, evitando gradientes de concentração no interior do biorreator. O peróxido de oxigênio (H₂O₂) numa concentração de 30 % em massa foi adicionado ao meio (30 µL desta solução em intervalos de aproximadamente 5 h, durante a cinética), para garantir que o meio contivesse oxigênio suficiente para os micro-organismos consumirem toda a matéria orgânica presente no biorreator. Durante 20 dias os biorreatores foram alimentados periodicamente com a solução de meio mineral, peróxido de hidrogênio e com glicose como fonte de carbono, tendo como

objetivo a fixação da biomassa no suporte. A concentração de oxigênio dissolvido no meio foi monitorada diariamente, com o auxílio do oxímetro, a fim de garantir que a concentração do mesmo não ficasse abaixo de 2 mg/L.

Decorrido este período, os biorreatores foram submetidos aos compostos BTEX. Para tanto, reduziu-se a concentração de glicose e introduziu-se os compostos BTEX gradativamente em cada biorreator da seguinte forma: a concentração de carbono permaneceu em 180 mg/L; a primeira adição do carbono dos compostos BTEX ao meio foi equivalente a 10 %, e os outros 90 % foram de glicose. Os biorreatores foram alimentados durante 10 dias com essas proporções. Após aumentou-se a proporção do carbono dos compostos BTEX para 20 % e o carbono da glicose passou para 80 %, permanecendo nesta proporção por mais 10 dias. A quantidade de carbono dos compostos BTEX foi aumentada de 20 em 20 % até atingir 100 % no mesmo intervalo de tempo. A alimentação foi feita diariamente tirando 100 mL da solução do biorreator e adicionando 100 mL da solução de meio mineral, peróxido de oxigênio e da fonte de carbono. O tempo de substituição da glicose foi de aproximadamente 3 meses. Este procedimento de adaptação se faz necessário, devido ao fato dos compostos BTEX apresentarem elevada toxicidade para grande parte dos seres vivos. Com o objetivo de evitar um choque, e eventual morte ou inibição das células, optou-se por uma adaptação gradativa da biomassa aos compostos. Após o período de adaptação da biomassa, todos os biorreatores foram alimentados diariamente retirando-se a solução presente no biorreator e adicionando-se 280 mL da solução de meio mineral, 30 µL de peróxido de hidrogênio e 60 mg/L de cada composto. A concentração de oxigênio solúvel no meio foi monitorada diariamente, e as análises da concentração dos compostos foram realizadas em um cromatógrafo gasoso (CG), conforme será descrito no item 3.3. Com o restante das biopartículas foram montados três biorreatores para a obtenção das cinéticas, contendo 11 g de biopartícula em cada, o que equivale a aproximadamente 5 g de xisto seco, no qual o processo de alimentação foi realizado em batelada. Nos biorreatores em batelada foram adicionados 280 mL do meio mineral, 180 mg/L dos compostos BTEX (sendo 60 mg/L de cada composto) e 30 µL de peróxido de oxigênio. A alimentação era realizada diariamente conforme descrito no parágrafo anterior.

3.2.11 Cinéticas de biodegradação

Os ensaios para a obtenção das cinéticas de biodegradação dos compostos BTEX foram realizados utilizando-se biorreatores em batelada, escala de bancada, constituídos por erlenmeyers de 250 mL. Os biorreatores foram vedados com tampa de politetrafluoretileno, com uma seringa acoplada para retirada das amostras. Foram adicionados aos erlenmeyers, as biopartículas (xisto + biomassa), já peneiradas a fim de separar o lodo não aderido ao suporte, 280 mL do meio mineral, 30 μ L de peróxido de oxigênio a cada 5 h e 60 mg/L de cada composto em estudo. Após, foram adicionadas uma quantidade de veda-roscas líquido, a tampa do biorreator, para garantir a completa vedação dos mesmos. Em intervalos regulares de tempo eram retiradas alíquotas de 0,3 mL para serem analisadas no CG, até que fosse observada toda degradação do composto em estudo ou a estabilidade de uma determinada concentração durante o tempo. A temperatura foi mantida a 25 °C durante as cinéticas. Foram realizados experimentos monocomponentes, bicomponentes, tricomponentes e quadricomponentes, com uma concentração inicial de 60 mg/L para cada composto orgânico estudado.

3.3 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

As amostras contendo os compostos BTEX foram analisadas em um cromatógrafo gasoso GC-17A da Shimadzu (Figura 6) com um detector de ionização por chama. A coluna cromatográfica instalada foi uma DB-5 J&W Scientific (ref. 122-5032) com 30 metros de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura de filme.

Figura 6. Cromatógrafo gasoso GC-17A da Shimadzu



As condições analíticas utilizadas no CG foram:

- Temperatura do injetor: 200 °C;
- Modo splitless: splitless durante 5 min e split (1/20);
- Temperatura da coluna: 50 °C por 5 minutos e 8 °C/min até 250 °C por 30 minutos;
- Temperatura do detector: 250 °C.

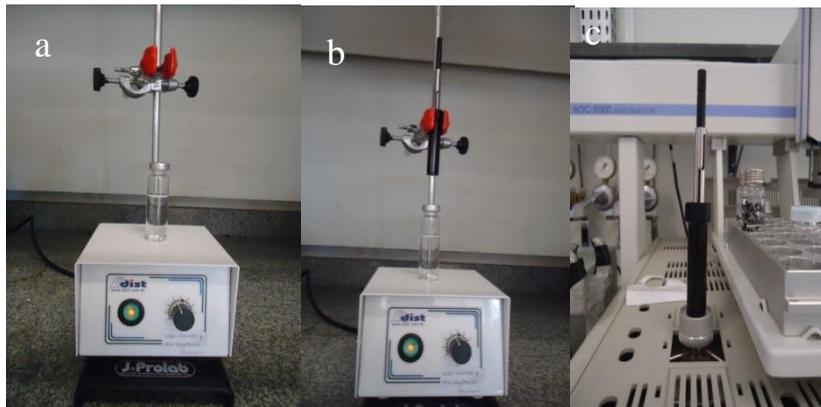
Para análise dos compostos em solução aquosa foi utilizada a técnica de microextração em fase sólida (SPME) com *headspace*, que consiste na concentração do analito na fibra de SPME e sua posterior dessorção no injetor do cromatógrafo gasoso. A fibra utilizada para a concentração dos analitos foi a fibra de microextração composta de polidimetilssiloxano, com espessura de filme de 100µm da marca Supelco Analytical®. A fibra foi manuseada com o apoio de um suporte manual para fibra de SPME, também fornecido pela mesma empresa, como mostra a Figura 7.

Figura 7. Fibra de SPME e suporte utilizado para análise dos compostos BTEX.



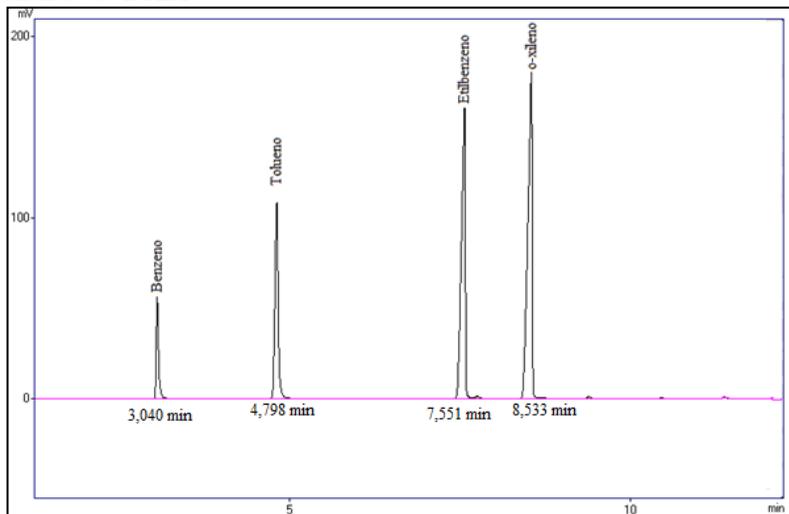
A metodologia de análise dos compostos BTEX através da microextração em fase sólida foi baseada no trabalho de Aivalioti *et al.*, (2010) com algumas modificações e consiste na adição de 13,5 mL de solução de NaCl saturada (250 mg/L) em vial de 22 mL e 0,3 mL da amostra a ser analisada. O vial foi lacrado com septo de teflon/silicone e tampa de crimp e mantido sob agitação, em mesa de agitação magnética marca Dist, por cinco minutos, a fim de transferir o analito da fase aquosa para a fase do vapor. Após esse tempo, com a fibra retraída na agulha, o septo do frasco é perfurado e a fibra é exposta à amostra por dez minutos. Terminado o tempo de extração, a fibra é novamente retraída, a agulha é retirada do septo e levada para inserção no CG. Com a fibra retraída o septo do injetor é perfurado, a fibra é exposta para dessorção térmica durante cinco minutos e, terminada a dessorção, é retraída e a agulha retirada. A Figura 8 mostra as etapas de extração e dessorção do analito na fibra de SPME para análise dos compostos BTEX em cromatógrafo gasoso.

Figura 8. Etapas de extração e dessorção do analito na fibra de SPME para análise dos compostos BTEX em cromatógrafo gasoso (a) tempo de vaporização do analito para o headspace (b) Adsorção do analito na fibra de SPME (c) dessorção do analito no injetor do CG.



Para a determinação do tempo de retenção dos analitos na programação da metodologia desenvolvida, foi efetuada injeção de uma solução padrão contendo todos os analitos estudados: benzeno, tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno. O cromatograma obtido encontra-se na Figura 9.

Figura 9. Cromatograma obtido utilizando a programação desenvolvida para análise dos BTEX



3.3.1 Validação do método

A metodologia analítica para uso na pesquisa deverá ser validada para garantir seu desempenho dentro das condições metroológicas requeridas nas análises para as quais foram desenvolvidas. Os parâmetros analíticos normalmente encontrados para validação de métodos cromatográficos são: seletividade, linearidade e faixa de aplicação, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação (HELENO *et al.*, 2010). A metodologia utilizada nesse estudo para análise dos compostos BTEX foi validada seguindo os parâmetros apresentados a seguir.

3.3.1.1 Seletividade

A seletividade de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir com a sua determinação em uma amostra complexa (RIBANI *et al.*, 2004). Uma amostra fortificada com padrão de concentração conhecida (1000 µg/L) foi injetada no CG e comparada com uma amostra isenta de analitos (branco) a fim de se observar possíveis interferentes nos tempos de retenção característicos dos compostos BTEX provenientes da matriz estudada, bem como a separação e resolução dos picos.

3.3.1.2 Linearidade

A linearidade é definida como a capacidade do método analítico em fornecer resultados proporcionais à concentração do analito presente na amostra, dentro de uma faixa de concentração, na qual se pode correlacionar o valor de uma variável dependente (medida) por meio de uma variável independente (concentração) (CARVALHO e LEITE, 1998).

A linearidade foi analisada através da construção de uma curva analítica, obtida em triplicata, através da diluição de uma solução padrão de metanol série Gold da marca Carlo Erba, de 20 mg/L para cada composto na faixa de concentração de 3-3000 mg/L. Para os quatro compostos estudados, foi gerado um gráfico de concentração *versus* área do pico, verificando-se até qual concentração a linearidade da curva era observada. A melhor faixa de trabalho será no intervalo em que a curva analítica se apresentar linear.

3.3.1.3 Exatidão

A exatidão expressa a concordância entre o valor encontrado e o valor aceito como verdadeiro ou aceito como referência (LANÇAS, 2004). O processo utilizado para avaliação da exatidão do método em estudo foi os ensaios de recuperação, onde três concentrações de 300, 800 e 2000 µg/L para o tolueno, etilbenzeno e o *o*-xileno e 300, 800 e 1500 µg/L para o benzeno, em triplicata, foram colocadas na matriz de análise (ausente do adsorvente), e agitadas durante 24 horas e logo após analisadas em cromatógrafo gasoso, marca SHIMADZU, modelo 17A. A recuperação foi determinada pela Equação 11:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{valor obtido}}{\text{valor adicionado}} \times 100 \quad (11)$$

3.3.1.4 Precisão

A precisão é a expressão da concordância entre vários resultados analíticos obtidos para uma mesma amostra (LANÇAS, 2004). A precisão do método foi estudada através de ensaios de repetitividade que expressam a precisão nas mesmas condições de operação (equipamento, analista, reagentes, dia e mesmas condições ambientais) e foi avaliada com nove determinações dentro do intervalo de três diferentes concentrações (300, 800 e 2000 µg/L para o tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno e 300, 800 e 1500 µg/L para o benzeno) e três replicatas.

A precisão é calculada através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD), também conhecida como coeficiente de variação (CV), e é expresso pela Equação 12.

$$\text{CV (\%)} = \frac{S}{X} \times 100 \quad (12)$$

Onde X é a média aritmética do número de medições, e S é o desvio padrão das medidas das amostras.

3.3.1.5 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Limite de detecção

O limite de detecção (LD) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental (RIBANI, 2004). O limite de detecção para a validação desse método foi calculado através dos parâmetros da curva analítica, utilizando-se a Equação 13.

$$LD = 3,3 \frac{s}{S} \quad (13)$$

Onde s é a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear da equação e S é o coeficiente angular da curva analítica.

Limite de quantificação

O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental. O limite de quantificação foi avaliado através dos parâmetros da curva analítica utilizando a Equação 14.

$$LD = 10 \frac{s}{S} \quad (14)$$

Onde s é a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear da equação e S é o coeficiente angular da curva analítica.

3.4 MODELAGEM MATEMÁTICA

A formulação matemática foi baseada no trabalho de Mello *et al.*, (2010), no qual é apresentado um modelo de uma única equação que descreve o perfil de concentração do substrato em um biorreator de leito fixo, conforme é apresentado na Equação 15. Esse modelo é capaz de descrever o fenômeno de transferência de massa aliada à reação bioquímica em um reator completamente preenchido com biomassa aderida em um suporte.

$$\begin{aligned}
(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma) \frac{\partial \{CA\}}{\partial t} - \vec{\nabla} \cdot (\varepsilon_\beta v_\beta \{CA\}) \\
= \nabla \cdot (\varepsilon_\beta D^* \vec{\nabla} \{CA\}) \\
- \varepsilon_\sigma a_v R_{mA} \frac{\{CA\}}{K_A + \{CA\}}
\end{aligned} \tag{15}$$

A condição inicial e as condições de contorno adotadas para a Equação 15, são:

$$t = 0 \ (\forall z) : \{CA\} = 0 \tag{15.1}$$

$$t > 0 \quad \{CA\} \Big|_{z=0} = C_A \tag{15.2}$$

$$\frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \Big|_{z=z} = 0 \tag{15.3}$$

Esse sistema é caracterizado por duas escalas heterogêneas: macroescala, que é formada por duas fases, a fase líquida (efluente presente dentro do biorreator) e a fase sólida (biofilme e o material de suporte); e a microescala (biofilme) que engloba os micro-organismos. Na microescala também existe duas fases: a fase líquida, que é encontrada entre as células microbianas e o suporte; e a fase sólida (material de suporte), nessa fase não ocorre a transferência de massa, pois ela é rígida e impermeável.

3.4.1 Parâmetros do modelo

Analisando-se a Equação 15 pode-se observar que existem propriedades físicas com valores desconhecidos que são necessárias para se obter a solução numérica do problema.

3.4.1.1 Coeficiente de Dispersão Total na Macroescala

O Coeficiente de Dispersão Total na Macroescala (D^*) foi calculado através da correlação de Whitaker (1999), citado em Brandão (2002), como mostra a Equação (16):

$$D^* = 0,70 D_\beta \left[\frac{d_p v_\beta}{D_\beta} \left(\frac{\varepsilon_\beta}{1 - \varepsilon_\beta} \right) \right]^{1,2} \tag{16}$$

onde D_{β} é a difusividade molecular da espécie química A na fase β , d_p é o diâmetro da partícula, e v_{β} é a velocidade média intrínseca do líquido. Na Tabela 9 são apresentados os valores obtidos da difusividade molecular de cada componente na fase líquida (STERNE, 1998).

Tabela 8. Valores da difusividade molecular dos compostos BTEX

| Componente | D_{β} (m ² /s) |
|-------------|---------------------------------|
| Benzeno | $9,8 \times 10^{-10}$ |
| Tolueno | $8,6 \times 10^{-10}$ |
| Etilbenzeno | $7,8 \times 10^{-10}$ |
| o-Xileno | $8,4 \times 10^{-10}$ |

A velocidade média intrínseca do líquido através do leito foi calculada através da Equação 17:

$$v_{\beta} = \frac{Q}{\varepsilon_{\beta} A} \quad (17)$$

Onde Q é a vazão de alimentação e A é área transversal do biorreator.

3.4.1.2 Porosidade na Microescala

A porosidade da fase líquida na microescala (ε_{γ}) é estimada por Fan *et al.* (1990), citada por Brandão (2002), que obtiveram um valor médio de 0,70; logo, o valor da porosidade da fase sólida na microescala (ε_{κ}) é 0,30.

3.4.1.3 Massa Específica do Biofilme Seco

A massa específica do biofilme seco (p_b) foi calculada através da Equação (18), estimada por Coelho *et al.*, (1992).

$$p_b = 191,4 - 0,224\delta \quad (18)$$

onde δ é a espessura do biofilme.

3.4.1.4 Área Superficial por Unidade de Volume na Macroescala

A área superficial por unidade de volume na macroescala (a_v) pode ser calculada através da Equação (19), apresentada por Brandão (2002).

$$a_v = \frac{6(1 - \varepsilon_\beta)}{d_p} \quad (19)$$

O d_p é o diâmetro da partícula calculado pela Equação (20):

$$d_p = d_s + 2\delta \quad (20)$$

sendo que d_s é o diâmetro médio do suporte.

3.5 FORMULAÇÃO NUMÉRICA

A equação diferencial que governa o problema de transferência de massa com biodegradação em um reator com biofilme, foi resolvida no espaço e no tempo utilizando o Método dos Volumes Finitos.

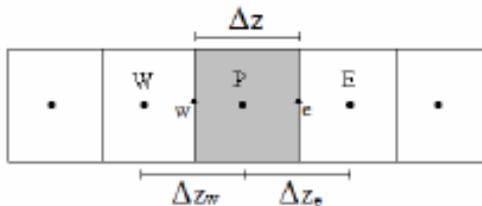
3.5.1 Métodos dos Volumes Finitos

O Método dos Volumes Finitos é uma técnica numérica utilizada para resolver equações diferenciais parciais através da substituição das derivadas por expressões algébricas aproximadas que envolvem a função incógnita, por meio de uma discretização. A discretização existe em dividir o domínio de cálculo em números de pontos menores, gerando uma malha. Quanto maior for o número de pontos na malha, maior será a aproximação entre a solução exata e a numérica.

No Método dos Volumes Finitos as equações aproximadas são obtidas através da integração das equações diferenciais no espaço e no tempo sobre o volume elementar no domínio do problema, das equações diferenciais no espaço e no tempo (MALISKA, 1995).

Com a ideia de desenvolver um algoritmo computacional de fácil implementação computacional utilizou-se malha estruturada fixa e arranjo de variáveis colocalizadas, conforme mostra a Figura 10.

Figura 10. Volume de controle elementar unidimensional e seus vizinhos.



3.5.1.1 Discretização das Equações pelo Método dos Volumes Finitos

A discretização da Equação 15, foi feita utilizando o Método dos Volumes Finitos e será apresentada nesse tópico. As hipóteses assumidas foram:

- 1 – Regime transiente;
- 2 – Propriedades físicas constantes (D_{AB} , ρ , μ);
- 3 – Fluido incompressível ($\rho = \text{constante}$);
- 4 – Fluxo unidimensional, a concentração varia somente na direção z ;
- 5 – Longe da entrada e da saída;
- 6 – Fluido Newtoniano;
- 7 – Paredes do biorreator impermeáveis;
- 8 – Porosidades constantes (ε_γ , ε_σ , ε_β);
- 9 – Escoamento isotérmico;
- 10 – Fluido sem rotação;
- 11 – Toda a biomassa presente no biorreator está aderida ao suporte.
- 12 – Partículas do suporte são esféricas;
- 13 – Densidade das partículas do biofilme é mantida constante.

Após a aplicação das hipóteses, obtém-se:

$$(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma) \cdot \frac{\partial \{CA\}}{\partial t} + \frac{\partial (\varepsilon_\beta v_\beta \{CA\})}{\partial z} = \frac{\partial}{\partial z} \left(\varepsilon_\beta D \cdot \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \right) - \varepsilon_\sigma a_v R_{mA} \frac{\{CA\}}{K_A + \{CA\}} \quad (21)$$

Aplicando a integração da Equação 21 no espaço e no tempo, conforme proposto por Maliska (1995), obtém-se

$$\begin{aligned}
& \int_w^e \int_t^{t+\Delta t} \left((\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma) \frac{\partial \{CA\}}{\partial t} \right) dt dz + \int_w^e \int_t^{t+\Delta t} \left(\frac{\partial (\varepsilon_\beta v_\beta \{CA\})}{\partial z} \right) dt dz = \\
& \int_w^e \int_t^{t+\Delta t} \left(\frac{\partial}{\partial z} \left(\varepsilon_\beta D^* \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \right) \right) dt dz - \\
& \int_w^e \int_t^{t+\Delta t} \left(\varepsilon_\sigma a_\nu R_{mA} \frac{\{CA\}}{K_A + \{CA\}} \right) dt dz \quad (22)
\end{aligned}$$

Termo Transiente

A integração no tempo é obtida de forma direta:

$$\int_w^e \int_t^{t+\Delta t} \left((\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma) \frac{\partial \{CA\}}{\partial t} \right) dt dz = (\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma) \int_w^e \left(\{CA\} \Big|_P^{t+\Delta t} - \{CA\} \Big|_P^t \right) dz$$

Fazendo-se uma aproximação da integral no volume, resulta:

$$(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma) \int_w^e (\{CA\} \Big|_P^{t+\Delta t} - \{CA\} \Big|_P^t) dz = (\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma) (\{CA\} \Big|_P^{t+\Delta t} - \{CA\} \Big|_P^t) \Delta z \quad (23)$$

Utilizando uma nomenclatura simplificada para o tempo, tem-se:

$$(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma) (\{CA\} \Big|_P^{t+\Delta t} - \{CA\} \Big|_P^t) \Delta z = (\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma) (\{CA\} \Big|_P^{n+1} - \{CA\} \Big|_P^n) \Delta z \quad (24)$$

Termo Convectivo

A integração do termo convectivo na direção z é realizada considerando-se as variáveis constantes ao longo das faces do volume de controle:

$$\int_w^e \int_t^{t+\Delta t} \left(\frac{\partial (\varepsilon_\beta v_\beta \{CA\})}{\partial z} \right) dt dz = \int_t^{t+\Delta t} (\varepsilon_\beta v_\beta CA \Big|_e - \varepsilon_\beta v_\beta CA \Big|_w) dt \quad (25)$$

Fazendo-se uma aproximação da integral no tempo, resulta:

$$\int_t^{t+\Delta t} (\varepsilon_\beta v_\beta \{CA\}|_e - \varepsilon_\beta v_\beta \{CA\}|_w) dt = (\varepsilon_\beta v_\beta \{CA\}|_e^{n+\theta} - \varepsilon_\beta v_\beta \{CA\}|_w^{n+\theta}) \Delta t \quad (26)$$

Termo Difusivo

A integração do termo difusivo na direção z é realizada considerando-se as variáveis constantes ao longo das faces do volume de controle:

$$\int_w^e \int_t^{t+\Delta t} \left(\frac{\partial}{\partial z} \left(\varepsilon_\beta D^* \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \right) \right) dt dz = \int_t^{t+\Delta t} \left(\varepsilon_\beta D^* \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \Big|_e - \varepsilon_\beta D^* \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \Big|_w \right) dt \quad (27)$$

Fazendo-se uma aproximação da integral no tempo, tem-se:

$$\int_t^{t+\Delta t} \left(\varepsilon_\beta D^* \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \Big|_e - \varepsilon_\beta D^* \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \Big|_w \right) dt = \left(\varepsilon_\beta D^* \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \Big|_e^{n+\theta} - \varepsilon_\beta D^* \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \Big|_w^{n+\theta} \right) \Delta t \quad (28)$$

Termo Fonte

O termo fonte é avaliado no ponto P do volume de controle. A integração do termo fonte no tempo e no espaço fornece:

$$\int_w^e \int_t^{t+\Delta t} \left(\varepsilon_\sigma a_v R_{mA} \frac{\{CA\}}{K_A + \{CA\}} \right) dt dz = \left(\varepsilon_\sigma a_v R_{mA} \frac{\{CA\}_P^{n+\theta}}{K_A + \{CA\}_P^{n+\theta}} \right) \Delta t \Delta z \quad (29)$$

Substituído às aproximações na Equação 29, obtém-se:

$$\begin{aligned} & (\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma) ((\{CA\}_P^{n+1} - \{CA\}_P^n) \Delta z + (\varepsilon_\beta v_\beta \{CA\}|_e^{n+\theta} - \varepsilon_\beta v_\beta \{CA\}|_w^{n+\theta}) \Delta t = \left(\varepsilon_\beta D^* \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \Big|_e^{n+\theta} - \varepsilon_\beta D^* \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \Big|_w^{n+\theta} \right) \Delta t - \\ & \left(\varepsilon_\sigma a_v R_{mA} \frac{\{CA\}_P^{n+\theta}}{K_A + \{CA\}_P^{n+\theta}} \right) \Delta t \Delta z \quad (30) \end{aligned}$$

Rearranjando tem-se:

$$\frac{(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma) (\{CA\}_P^{n+1} - \{CA\}_P^n) \Delta z}{\Delta t} + (\varepsilon_\beta v_\beta \{CA\}_e^{n+\theta} - \varepsilon_\beta v_\beta \{CA\}_w^{n+\theta}) =$$

$$\left(\varepsilon_\beta D^* \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \Big|_e^{n+\theta} - \varepsilon_\beta D^* \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \Big|_w^{n+\theta} \right) - \left(\varepsilon_\sigma a_v R_{mA} \frac{\{CA\}_P^{n+\theta}}{K_A + \{CA\}_P^{n+\theta}} \right) \Delta z$$

(31)

3.5.1.2 Funções de Interpolação

A variável θ pode assumir valores entre 0 e 1. Quando θ assume o valor de 0 tem-se uma formulação explícita (todas as variáveis na equação estão sendo avaliadas a partir de variáveis calculadas num instante imediatamente anterior), e quando θ for 1 tem-se uma formulação totalmente implícita (todas as variáveis na equação são calculadas no mesmo instante de tempo).

Neste trabalho utilizou a formulação explícita, θ igual a 0, para resolver a equação discretizada.

As expressões resultantes para o termo convectivo necessitam do conhecimento das variáveis e de suas derivadas, nas interfaces do volume de controle, indicadas por e e w , pois as variáveis somente são conhecidas no centro do volume de controle, indicados pelos pontos E , W e P . Em virtude disto é necessária uma função de interpolação para avaliar a variável nas interfaces.

A função de interpolação utilizada neste trabalho será o esquema WUDS (*Weighted Upstream Differencing Scheme*), para avaliar as propriedades e seus gradientes nas interfaces dos volumes de controle. O valor da variável genérica nas faces do volume de controle é aproximado na face e pela Equação 32, e na face w , pela Equação 33.

$$\{CA\}_e = \left(\frac{1}{2} + \alpha_e \right) \{CA\}_P + \left(\frac{1}{2} - \alpha_e \right) \{CA\}_E \quad (32)$$

$$\{CA\}_w = \left(\frac{1}{2} + \alpha_w \right) \{CA\}_W + \left(\frac{1}{2} - \alpha_w \right) \{CA\}_P \quad (33)$$

E os gradientes da concentração nas interfaces e e w podem ser calculados pelas Equações 34 e 35, respectivamente:

$$\left. \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \right|_e = \beta_e \frac{\{CA\}_E - \{CA\}_P}{\Delta z} \quad (34)$$

$$\left. \frac{\partial \{CA\}}{\partial z} \right|_w = \beta_w \frac{\{CA\}_P - \{CA\}_W}{\Delta z} \quad (35)$$

Os coeficientes α e β podem ser calculados pelas seguintes expressões:

$$\alpha = \frac{Pe^2}{10 + 2Pe^2} \quad (36)$$

$$\beta = \frac{1 + 0,005Pe^2}{1 + 0,05Pe^2} \quad (37)$$

Onde Pe é o número de Peclet, definido como:

$$Pe = \frac{v\beta\Delta z}{D^*} \quad (38)$$

Substituindo as expressões 32, 33, 34 e 35 na Equação 31, obtém-se:

$$\begin{aligned} & (\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma) \left(\{CA\}_P^{n+1} - \{CA\}_P^n \right) \frac{\Delta z}{\Delta t} + \varepsilon_\beta v_\beta \left[\left(\frac{1}{2} + \alpha_e \right) \{CA\}_P + \right. \\ & \left. \left(\frac{1}{2} - \alpha_e \right) \{CA\}_E \right] - \varepsilon_\beta v_\beta \left[\left(\frac{1}{2} + \alpha_w \right) \{CA\}_W + \left(\frac{1}{2} - \alpha_w \right) \{CA\}_P \right] = \\ & \left(\varepsilon_\beta D^* \left[\beta_e \frac{\{CA\}_E - \{CA\}_P}{\Delta z} \right] - \varepsilon_\beta D^* \left[\beta_w \frac{\{CA\}_P - \{CA\}_W}{\Delta z} \right] \right) - \\ & \left(\varepsilon_\sigma \alpha_v R_{mA} \frac{\{CA\}_P^n}{K_A + \{CA\}_P^n} \right) \Delta z \end{aligned} \quad (39)$$

A Equação 39 pode ser escrita na forma:

$$A_p \{CA\}_P^{n+1} - A_e \{CA\}_E^n - A_w \{CA\}_W^n = S^\emptyset \quad (40)$$

onde:

$$A_p = \left(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma \right) \frac{\Delta z}{\Delta t} + \varepsilon_\beta v_\beta \left(\frac{1}{2} + \alpha_e \right) - \varepsilon_\beta v_\beta \left(\frac{1}{2} - \alpha_w \right) + \frac{\varepsilon_\beta D^* \beta_e}{\Delta z} + \frac{\varepsilon_\beta D^* \beta_w}{\Delta z} \quad (41)$$

$$A_e = \varepsilon_\beta v_\beta \left(\frac{1}{2} - \alpha_e \right) - \frac{\varepsilon_\beta D^* \beta_e}{\Delta z} \quad (42)$$

$$A_w = -\varepsilon_\beta v_\beta \left(\frac{1}{2} + \alpha_e \right) - \frac{\varepsilon_\beta D^* \beta_e}{\Delta z} \quad (43)$$

$$S^\emptyset = \left(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\gamma \varepsilon_\sigma \right) \frac{\Delta z}{\Delta t} \{CA\}_P^n - \left(\varepsilon_\sigma a_v R_{mA} \frac{\{CA\}_P^n}{K_A + \{CA\}_P^n} \right) \Delta z \quad (44)$$

3.6 ALGORITMO COMPUTACIONAL

O algoritmo computacional foi desenvolvido em Matlab R12a. Sendo que o critério de convergência adotado foi o máximo de interações informado ao programa.

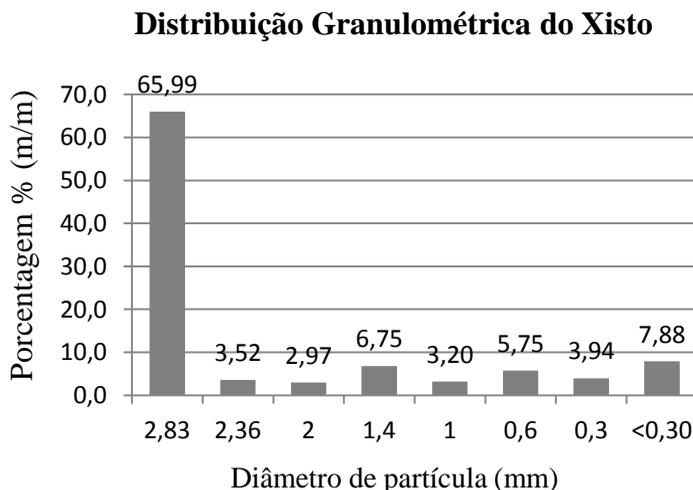
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXPERIMENTOS DE ADSORÇÃO

4.1.1 Distribuição granulométrica

A distribuição granulométrica é a distribuição, em porcentagem, dos diversos tamanhos de partículas. É a determinação das dimensões das partículas do agregado e de suas respectivas porcentagens de ocorrência. A distribuição de tamanho de partículas para o xisto retornado pode ser observada na Figura 11.

Figura 11. Distribuição granulométrica para o xisto retornado.



Como pode ser observada na Figura 11, a maior parte da composição granulométrica do xisto analisado, é composta por partículas de diâmetro maior, onde 65,99% da composição granulométrica do xisto com diâmetro de maior que 2,83 mm, em segundo lugar estão as partículas de com diâmetros menor de 0,30 mm com 7,88%.

Segundo Pinto (2000), denominações específicas são empregadas para diversas faixas de tamanho de grãos; seus limites, entretanto, variam conforme os sistemas de classificação. Os valores

adotados pela ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas – são os indicados na Tabela 10.

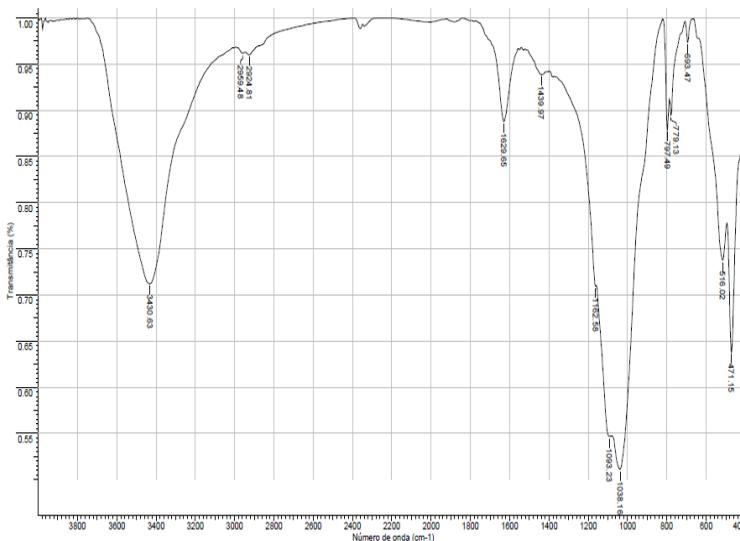
Tabela 9. Os valores adotados pela ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas, para tamanhos de grãos.

| Fração | Limites definidos pela Norma da ABNT |
|--------------|--------------------------------------|
| Matacão | De 25 cm a 1 m |
| Pedra | De 7,6 a 25 cm |
| Pedregulho | De 4,8 a 7,6 mm |
| Areia grossa | De 2,0 a 4,8 mm |
| Areia média | De 0,42 mm a 2,0 mm |
| Areia fina | De 0,05 a 0,42 mm |
| Silte | De 0,005 a 0,05 mm |
| Argila | Inferior a 0,005 mm |

Portanto, analisando a Tabela 10, a maior parte do xisto utilizado é composto por areia grossa, de 2,0 a 4,8 mm, pois apresentou diâmetro de 2,83 mm e a segunda maior fração é classificada pela ABNT como areia fina, pois apresentou diâmetro menor que 0,30 mm.

4.1.2 Grupos funcionais de superfície

O espectro de infravermelho (FTIR) fornece informações úteis sobre as estruturas, especialmente, para a determinação dos grupos funcionais de superfície presentes na amostra (FAN *et al.*, 2015). Os grupos funcionais na superfície da amostra do xisto retornado foram identificados através dos espectros de absorção na região do infravermelho (FTIR) e pode ser observado através da Figura 12.

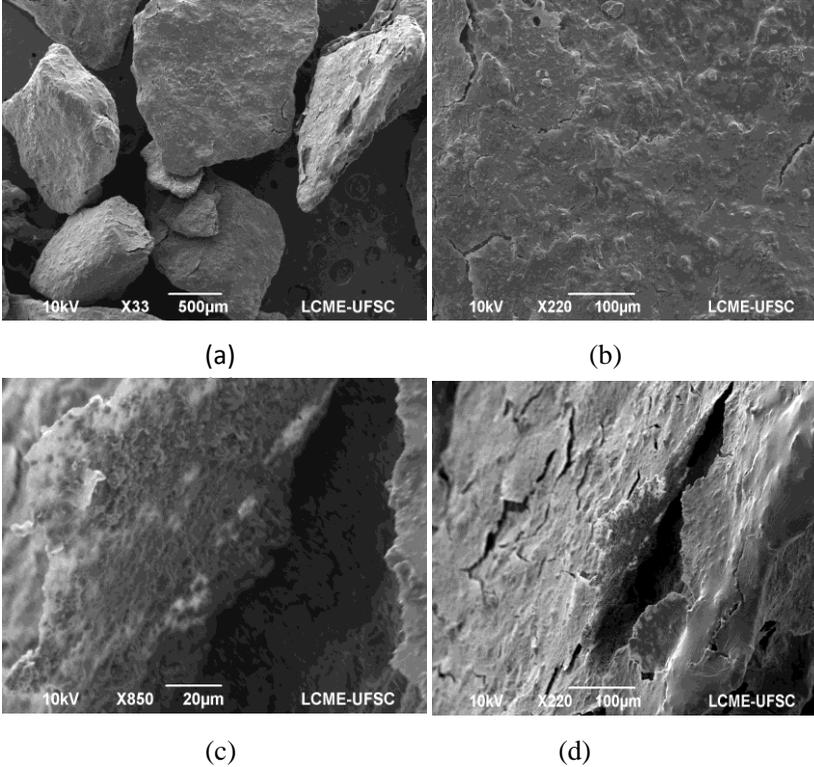
Figura 12. Espectros de absorção na região do infravermelho (FTIR)

As bandas em 3430 cm^{-1} podem ser atribuídas ao estiramento O-H de grupos hidroxílicos e de água adsorvida. A presença dessa banda mostra que possivelmente o xisto não perdeu água de constituição durante o processo de retortagem ou a água foi reabsorvida após o processo (AYAR *et al.*, 2008). As bandas em 2959 e 2829 cm^{-1} representam as vibrações dos grupos alifáticos C-H₃ e C-H₂, respectivamente (PIMENTEL *et al.*, 2010). Essas bandas são atribuídas a presença de matéria orgânica. Outra banda que confirma a presença da matéria orgânica é a banda em $693,47\text{ cm}^{-1}$, atribuída a deformação angular fora do plano, do grupo C-H. O pico em $1629,65\text{ cm}^{-1}$ pode ser atribuído às vibrações C=O dos carboxilatos (nCO), proveniente da matéria orgânica. A presença de argilo minerais e quartzo na amostra é evidenciada pelo estiramento Si-O e Si-O-Si, em 1099 e 1021 cm^{-1} (KHRAISHEH *et al.*, 2004). E uma vibração assimétrica em 1439 cm^{-1} e um dublete próximo de 1800 cm^{-1} ($797,49$ e $779,13\text{ cm}^{-1}$) é atribuída a deformação angular do grupo Si-OH. A banda em 516 cm^{-1} é representada o estiramento nM-O (M = metal) e corresponde aos óxidos presentes nas amostras.

4.1.3 Microscopia eletrônica de varredura

As imagens da superfície do xisto *in natura* podem ser visualizadas na Figura 13.

Figura 13. Imagens de superfície do xisto retornado *in natura*, com ampliação de a) X33; b) X220; c) X220; e d) X850.



Nas imagens mostradas na Figura 13, é possível observar que o xisto apresenta uma estrutura com placas lamelares características dos argilominerais. A imagem revela ainda o caráter poroso do material, tais regiões porosas são favoráveis à utilização do xisto como adsorvente (PIMENTEL, 2006).

4.1.4 Área superficial e volume de poros

A Tabela 11 apresenta os valores de área superficial, volume total de poros e tamanho médio de poros para amostra *in natura* do xisto retortado.

Tabela 10. Valores da área superficial, volume de poros e diâmetro médio de poros do xisto retortado *in natura*.

| Análise | Valores |
|--|---------|
| Área superficial BET*(m ² /g) | 6,524 |
| Volume de poros (cm ³ /Å/g) | 0,149 |
| Diâmetro médio dos poros (Å) | 9,19 |

O valor encontrado para área superficial do xisto retortado é relativamente baixo em comparação a outros adsorventes utilizados para adsorção de BTEX, como o carvão ativado que apresenta área superficial de 1200 m²/g (ALEGHAFOURI *et al.*, 2015), argila esmectita 32,98 m²/g (CARVALHO *et al.*, 2012). No entanto, corrobora com a caracterização da área de outras amostras de xistos utilizadas em outros estudos.

4.1.5 Influência da granulometria

As dimensões das partículas de adsorvente influenciam consideravelmente na eficiência da adsorção, que será tanto maior quanto menor for o diâmetro da partícula, devido ao aumento da área de contato disponível entre o adsorvente e o adsorbato.

A Tabela 12 mostra as quantidades adsorvidas para cada granulometria do xisto testada.

Tabela 11. Massa de Tolueno adsorvida com a variação da granulometria do adsorvente (pH = 6, T=23 °C, m_{xisto} = 1g, Co_{tolueno} = 56 mg/L).

| Tamanho da partícula (mm) | qe (mg/g) |
|---------------------------|------------|
| 2,36 | 1,54 ±0,12 |
| 1,40 | 3,31 ±0,12 |
| 1,00 | 3,74 ±0,09 |
| 0,60 | 2,83 ±0,38 |
| 0,60(lavado) | 2,83 ±0,23 |
| 0,30 | 2,77 ±0,11 |

Analisando a Tabela 12 é possível observar uma maior capacidade de adsorção do tolueno para o xisto retornado com os diferentes tamanhos de partículas na ordem: 1 mm > 1,40 mm > 0,60 mm = 0,60 mm lavado > 0,30 mm > 2,36 mm, mais estudos serão realizados para verificar os resultados obtidos. A Tabela 13 mostra os resultados obtidos através da ANOVA para a avaliação da significância dos resultados obtidos com a variação da granulometria do adsorvente.

Tabela 12. Análise ANOVA para avaliação da influência da granulometria do adsorvente sobre a capacidade de adsorção do Tolueno

| Efeito | Soma dos quadrados | Graus de liberdade | Média quadrática | Teste F | p |
|---------------|--------------------|--------------------|------------------|----------|----------|
| Intercepção | 98,44141 | 1 | 98,44141 | 2913,186 | 0,000000 |
| Granulometria | 4,29654 | 5 | 0,85931 | 25,430 | 0,000570 |
| Erro | 0,20275 | 6 | 0,03379 | | |

Os resultados da ANOVA expostos na Tabela 13 apontam a existência de uma diferença significativa na adsorção do tolueno utilizando diferentes tamanhos de partículas do adsorvente, pois o nível de significância obtido (p) foi menor que o estipulado ($0,000570 < 0,05$) além de o valor F calculado ser maior que o F tabelado ($14,16 > 4,39$). A Tabela 14 apresenta os resultados obtidos na realização do teste de Tukey para avaliar quais resultados apresentados na Tabela 12 diferem ou não entre si.

Tabela 13. Teste de Tukey para um nível de significância de 5%.

| Tamanho da partícula (mm) | Qe médio (mg/g) | 1 | 2 | 3 |
|---------------------------|-----------------|------|------|------|
| 2,36 | 1,54 | | | **** |
| 0,30 | 2,77 | **** | | |
| 0,60 | 2,83 | **** | | |
| 0,60 | 2,83 | **** | | |
| 1,40 | 3,31 | **** | **** | |
| 1,00 | 3,74 | | **** | |

Analisando-se os resultados obtidos através do teste de Tukey, foi possível observar que a maior capacidade de adsorção obtida para a granulometria de 1,00 mm não apresenta diferença significativa quando comparada às partículas com tamanho de 1,40 mm. Portanto a faixa

granulométrica escolhida para os ensaios de adsorção subsequentes foi entre 1,00 -1,40 mm.

4.1.6 Influência do pH

A influência do pH inicial na adsorção do tolueno em xisto retornado, foi avaliada nos valores de 1,69, 11,29 e 6 (pH natural). Segundo Schneider (2008) o pH da solução afeta a carga na superfície dos adsorventes assim como influencia na ionização de diversos solutos. Mudanças no pH afetam o processo de adsorção através da dissociação dos grupos funcionais presentes na superfície dos sítios ativos do adsorvente.

A Tabela 15 mostra os resultados da massa de tolueno adsorvida por grama de adsorvente (q_e) variando-se o pH inicial de solução.

Tabela 14. Massa de Tolueno adsorvida com a variação do pH inicial da solução (Tamanho da partícula = 1,00 -1,40 mm, $T=23\text{ }^\circ\text{C}$, $m_{\text{xisto}} = 1\text{ g}$, $C_{\text{Otolueno}} = 56\text{ mg/L}$).

| pH | q_e (mg/g) |
|-------|-----------------|
| 1,69 | $3,65 \pm 0,18$ |
| 6,0 | $3,72 \pm 0,02$ |
| 11,29 | $3,62 \pm 0,29$ |

Através dos valores encontrados na Tabela 15 é possível observar que a variação do pH não apresentou diferença no processo de adsorção do tolueno utilizando o xisto retornado como adsorvente. Resultados similares obtiveram Nourmoradi *et al.* (2012) que estudaram a adsorção de compostos BTEX em montmorilonita modificada com surfactante não iônico em uma faixa de pH entre 4 e 12. Esses autores observaram uma insignificante mudança na capacidade de adsorção com a variação do pH inicial da solução, e atribuíram esse resultado a uma alta estabilidade do adsorvente na faixa de pH estudada.

A fim de se confirmar a indiferença dos resultados obtidos, realizou-se a análise de variância (ANOVA) utilizando intervalo de confiança de 95% e nível de significância de 5% ($p = 0,05$). Os resultados obtidos podem ser visualizados na Tabela 16.

Tabela 15. Análise ANOVA para avaliação da influência do pH sobre a capacidade de adsorção do Tolueno

| Efeito | Soma dos quadrados | Graus de liberdade | Média quadrática | Teste F | P |
|-------------|--------------------|--------------------|------------------|--------------|--------------|
| Intercepção | 80,47611 | 1 | 80,47611 | 2004,9 19 | 0,00002 5 |
| pH | 0,01131 | 2 | 0,00565 | 0,141 | 0,87406 4 |
| Erro | 0,12042 | 3 | 0,04014 | | |

Como pode ser observado na Tabela 16, a capacidade de adsorção do tolueno utilizando o xisto retornado como adsorvente em diferentes valores de pH, não apresentou uma diferença significativa, pois a análise de variância apresentou a probabilidade p superior ao nível de significância adotado ($0,87 > 0,05$) e valor de $F_{\text{calculado}}$ menor que F_{tabelado} ($0,141 < 9,55$). Portanto através da análise estatística é possível garantir que o xisto retornado mantém a sua capacidade de adsorção em diferentes valores de pH.

4.1.8 Influência dos diferentes tratamentos

4.2.4.1 Tratamento ácido

Ativação ácida é geralmente realizada através do tratamento com ácido clorídrico ou ácido sulfúrico e tem como objetivos eliminar impurezas cimentantes adsorvidas naturalmente nos cristais, substituir cátions trocáveis por H^+ , abrir as bordas dos cristais e lixiviar cátions octaédricos, como Al^{+3} e Mg^{+2} . Este tratamento garante maior dispersão das partículas com consequente aumento da área superficial específica, aumento da porosidade e diâmetro dos poros (CARRERA *et al.* 2009). O tratamento com diferentes ácidos foi realizado em xisto retornado a fim de aumentar a capacidade de adsorção para o tolueno. A Tabela 17 mostra a massa de tolueno adsorvida para o tratamento com diferentes ácidos.

Tabela 16. Massa de tolueno adsorvida para o tratamento do xisto retortado com diferentes ácidos (pH 4-5, T=23 °C, $m_{\text{xisto}} = 1,0$ g, $C_{\text{tolueno}} = 56$ mg/L).

| Ácido | Qe (mg/g) |
|-------------------|------------|
| Fosfórico | 4,52 ±0,17 |
| Sulfúrico | 4,42 ±0,05 |
| Clorídrico | 3,61 ±0,17 |
| Acético | 5,39 ±0,29 |
| Nítrico | 2,60 ±0,66 |
| Nítrico + térmico | 1,67 ±0,32 |
| s/tratamento | 3,99 ±0,01 |

Os valores observados na Tabela 17 mostram que para o tratamento com os ácidos fosfórico, sulfúrico e acético, a capacidade da adsorção do xisto retortado aumentou em relação ao xisto sem tratamento. Para o adsorvente tratado com ácido clorídrico, nítrico e nítrico + térmico, essa capacidade foi diminuída, então a capacidade de adsorção do xisto retortado com os diferentes tratamentos ácidos decresce na ordem: $\text{CH}_3\text{COOH} > \text{H}_3\text{PO}_4 > \text{H}_2\text{SO}_4 > \text{s/tratamento/HCl} > \text{HNO}_3 > \text{HNO}_3 + 900^\circ\text{C}$. Foleto *et al.*, (2001) utilizaram ácido sulfúrico e clorídrico para verificar a influência na ativação de uma argila bentonítica e observaram que houve modificação na estrutura do material argiloso após o ataque ácido. O tratamento com ácido sulfúrico e clorídrico sobre uma mesma bentonita originou produtos com diferentes características estruturais. Bertella *et al.*, (2010), estudaram a ativação ácida de uma bentonita com ácido clórico e observou que o tratamento ácido não destruiu a estrutura da argila. Para Santos (1975) a ativação ácida serve para aumentar a área superficial de argilas assim como o volume de poros. Segundo Teixeira-Neto e Teixeira-Neto (2009) para argilas brutas, esse processo geralmente aumenta a área superficial em até cinco vezes, e também a sua acidez, junto com a eliminação de muitas impurezas minerais e a dissolução parcial das lamelas cristalinas.

Os resultados apresentados na Tabela 17 foram analisados através da ANOVA utilizando intervalo de confiança de 95% e nível de significância de 5% e seus resultados estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 17. Análise ANOVA para avaliação da influência do tratamento ácido no xisto retortado sobre a capacidade de adsorção do Tolueno.

| Efeito | Soma dos quadrados | Graus de liberdade | Média quadrática | Teste F | p |
|-------------|--------------------|--------------------|------------------|----------|----------|
| Intercepção | 196,1931 | 1 | 196,1931 | 1971,336 | 0,000000 |
| Ácidos | 18,9526 | 6 | 3,1588 | 31,739 | 0,000098 |
| Erro | 0,6967 | 7 | 0,0995 | | |

De acordo os resultados da ANOVA mostrados na Tabela 18 é possível observar que a adsorção do tolueno através do tratamento do xisto retortado tratado com diferentes ácidos apresentaram resultados significativos com p menor do que o estabelecido ($0,000098 < 0,05$) e valor de f maior do que o valor tabelado ($31,739 > 3,79$). O teste de Tukey para avaliação da diferença das médias desses tratamentos encontra-se na Tabela 19.

Tabela 18. Teste de Tukey para um nível de significância de 5%

| Ácido | qe médio (mg/g) | 1 | 2 | 3 | 4 |
|--------------------------------|-----------------|------|------|------|------|
| HNO ₃ +900 °C | 1,67 | | | **** | |
| HNO ₃ | 2,60 | | | **** | **** |
| HCl | 3,60 | **** | | | **** |
| s/tratamento | 3,99 | **** | | | |
| H ₂ SO ₄ | 4,42 | **** | | | |
| H ₃ PO ₄ | 4,51 | **** | **** | | |
| H ₃ CCOOH | 5,39 | | **** | | |

O teste de Tukey indica que o tratamento do xisto retortado com ácido acético, que foi o tratamento que apresentou maior capacidade de adsorção entre os outros ácidos estudados, não apresentou diferença significativa quando comparado ao tratamento utilizando ácido fosfórico. Através desses resultados é possível observar que a ativação do xisto retortado com os ácidos mais fracos testados (H₃CCOOH e H₃PO₄) apresentou uma maior eficiência na adsorção do tolueno pelo adsorvente tratado. Segundo Teixeira Neto e Teixeira- Neto (2009) a intensidade do tratamento ácido deve ser escolhida de acordo com a aplicação do material para que as propriedades mais importantes sejam ajustadas da melhor maneira. Para as bentonitas o tratamento ácido moderado aumenta o número de sítios ácidos na superfície, mas um

tratamento mais longo pode levar à diminuição desses sítios, devido à destruição parcial da estrutura cristalina.

Para o trabalho de Shawabkeh *et al.* (2004) que ativaram a cinza de xisto retornado com diferentes ácidos para adsorção de cobre e zinco, o tratamento com ácido nítrico mostrou-se mais eficiente em relação ao tratamento com ácido sulfúrico. Segundo os autores, o aumento da capacidade de adsorção no tratamento com ácido nítrico pode ser devido à abertura de mais macros e microporos dentro da estrutura da cinza do xisto, pois esse ácido reage com a cal e gipsita presente na estrutura do xisto para produzir nitrato de cálcio solúvel. E durante a lavagem do nitrato de cálcio, o sólido é deixado com uma estrutura aberta de alumínio, silício e óxidos de ferro. Por outro lado, quando a amostra é tratada com ácido sulfúrico, a cal livre reage com o sulfato para produzir sulfato de cálcio. Isso aumenta a quantidade de gipsita na amostra e conseqüentemente bloqueia os microporos das cinzas de xisto.

4.2.4.2 Tratamento alcalino

Para o tratamento alcalino foram utilizadas duas bases diferentes: o hidróxido de amônio e hidróxido de sódio. A Tabela 20 mostra a massa de tolueno adsorvido por grama de adsorvente para os dois tratamentos alcalinos testados e o xisto sem tratamento.

Tabela 19. Massa de tolueno adsorvido por grama de adsorvente para os dois tratamentos alcalinos testados e o xisto sem tratamento (pH = 6, T=23 °C, $m_{\text{xisto}} = 1,0 \text{ g}$, $C_{\text{tolueno}} = 56 \text{ mg/L}$).

| Base | Qe (mg/g) |
|---------------------|------------|
| Hidróxido de amônio | 1,47 ±0,01 |
| Hidróxido de sódio | 4,44 ±0,21 |
| s/tratamento | 3,99 ±0,01 |

Com os dados obtidos da Tabela 20 foi realizada uma ANOVA a fim de verificar a significância dos dados obtidos. O resultado dessa análise está exposto na Tabela 21.

Tabela 20. Análise ANOVA para avaliação da influência do tratamento ácido no xisto retortado sobre a capacidade de adsorção do Tolueno.

| Efeito | Soma dos quadrados | Graus de liberdade | Média quadrática | Teste F | p |
|-------------|--------------------|--------------------|------------------|----------|----------|
| Intercepção | 68,3437 | 1 | 68,3437 | 1081,103 | 0,000062 |
| Bases | 10,937 | 2 | 5,4688 | 86,510 | 0,002225 |
| Erro | 0,189 | 3 | 0,0632 | | |

A análise mostrada na Tabela 21 aponta uma diferença significativa entre os tratamentos testados, com p menor do que o estabelecido ($0,00006 < 0,05$) e valor de f maior do que o valor tabelado ($86,51 > 9,55$). O teste de Tukey para avaliação da diferença das médias desses tratamentos encontra-se na Tabela 22.

Tabela 21. Teste de Tukey para um nível de significância de 5 %

| Massa do adsorvente (g) | Qe médio (mg/g) | 1 | 2 |
|-------------------------|-----------------|------|------|
| NH ₄ OH | 1,47 | | **** |
| NaOH | 4,44 | **** | |
| s/tratamento | 3,99 | **** | |

Através do teste de Tukey foi possível observar que a capacidade de adsorção do xisto retortado tratado com hidróxido de sódio não apresentou uma diferença significativa em relação ao adsorvente sem tratamento. Shawabkeh *et al.*, (2004) observaram em seu trabalho que a imersão de cinzas de xisto em solução de NaOH aumenta a superfície ativa do adsorvente através do enriquecimento dessa superfície com grupos funcionais negativos. Como a capacidade de adsorção do tolueno não foi maior quando o adsorvente sofreu tratamento alcalino, é possível que a adsorção dos BTEX não seja favorecida pela ativação da superfície do xisto retortado com grupos funcionais negativos, já que o tolueno possui um grupo substituinte que doa elétrons para o anel aromático tornando-o mais negativo (Mc MURRY, 2005).

4.2.4.3 Tratamento Térmico

A estrutura e a composição dos diferentes adsorventes são modificadas pelo aquecimento. As mudanças, concomitantes, ocorrem

nas propriedades. As temperaturas reais em que as mudanças ocorrem variam extremamente de um adsorvente para outro. Estas temperaturas igualmente dependem do tamanho de partícula e do regime do aquecimento (VILAR *et al.*, 2009)

A Tabela 23 mostra os resultados obtidos através da adsorção do tolueno utilizando o xisto tratado termicamente nas temperaturas de 500 e 900 °C com atmosfera oxidante e tratado a 500 °C com atmosfera de nitrogênio (pirolisado) em comparação ao xisto sem nenhum tratamento.

Tabela 22. Massa de tolueno adsorvida utilizando o adsorvente com diferentes tratamentos térmicos (pH = 6, T=23 °C, $m_{\text{xisto}} = 1 \text{ g}$, $C_{\text{Otolueno}} = 56 \text{ mg/L}$).

| Tratamento | qe (mg/g) |
|--------------|------------|
| s/tratamento | 3,99 ±0,07 |
| pirolisado | 3,82 ±0,09 |
| 500 °C | 2,39 ±0,11 |
| 900 °C | 0,64 ±0,26 |

Como pode ser observado na Tabela 26 os tratamentos térmicos realizados no xisto retornado para adsorção do tolueno, não foram eficientes, apresentando capacidade de adsorção mais baixa em comparação ao xisto utilizado sem tratamento. A capacidade de adsorção para esse tipo de ativação decresce na ordem: s/tratamento >pirolisado>500 °C>900 °C. A Tabela 24 apresenta a análise estatística realizada para os dados contidos na Tabela 26 utilizando intervalo de confiança de 95 % e nível de significância de 5 %.

Tabela 23. Análise ANOVA para avaliação da influência do tratamento térmico do adsorvente sobre a capacidade de adsorção do Tolueno.

| Efeito | Soma dos quadrados | Graus de liberdade | Média quadrática | Teste F | p |
|-------------|--------------------|--------------------|------------------|----------|----------|
| Intercepção | 58,64445 | 1 | 58,64445 | 2514,232 | 0,000001 |
| Temperatura | 14,9645 | 3 | 4,83215 | 207,166 | 0,000077 |
| Erro | 0,09330 | 4 | 00,02333 | | |

Os resultados obtidos através da ANOVA (Tabela 24) apontam uma diferença significativa entre as médias dos resultados obtidos na capacidade de adsorção do adsorvente tratado termicamente em diferentes temperaturas, pois o nível de significância encontrado (p) foi menor do que o estabelecido ($0,00 < 0,05$) e também o valor de f apresentou-se maior em relação ao valor tabelado ($207,166 > 6,59$). Para

avaliar quais tratamentos difere-se entre si, foi realizado teste de Tukey e o resultado encontra-se na Tabela 25.

Tabela 24. Teste de Tukey para um nível de significância de 5%

| Temperatura | qe médio (mg/g) | 1 | 2 | 3 |
|--------------|--------------------|------|------|------|
| 900 °C | 0,64 | | **** | |
| 500 °C | 2,39 | | | **** |
| Pirolisado | 3,82 | **** | | |
| s/tratamento | 3,99 | **** | | |

O teste de Tukey apresentado na Tabela 25 mostra que não houve uma diferença significativa para o tratamento do xisto através da pirólise e para o adsorvente sem tratamento. Esse fato possivelmente é atribuído ao processo de retortagem do xisto, que consiste no aquecimento da rocha em condições de temperatura controlada na ordem de 500 °C em atmosfera isenta de oxigênio, de modo que a matéria orgânica (betume e querogênio) se decompõe pela ação do calor, assim na prática, o xisto designado sem tratamento já passou pelo processo de pirólise e por isso após um novo tratamento ele não apresentou diferenças significativas na sua capacidade de adsorção. Para os tratamentos térmicos em atmosfera oxidante, o adsorvente apresentou uma diferença significativa entre as duas temperaturas testadas (500 e 900 °C), no entanto menor em comparação ao adsorvente sem tratamento. Aivalioti *et al.* (2010) estudaram a adsorção dos compostos BTEX em diatomita tratada termicamente nas temperaturas de 550, 750 e 950 °C e observaram que o tratamento na temperatura de 550 °C aumentou a área superficial e o volume de poro do adsorvente e consequentemente, a capacidade de adsorção dos compostos em estudo. Para os autores, esse resultado é atribuído à remoção dos compostos voláteis através da volatilização a altas temperaturas (550 °C), para eles, o tratamento térmico a 750 e 950 °C parece causar uma mudança na estrutura da diatomita desde o aumento do raio médio dos poros até a diminuição da área superficial externa.

4.2.4.4 Tratamento com surfactantes

O tratamento com diferentes tipos de surfactantes foi realizado em xisto retornado a fim de se aumentar a capacidade de adsorção do tolueno, devido à capacidade desses compostos em tornar adsorventes

hidrofílicos, em adsorventes capazes de adsorver compostos não polares (NOURMORADI *et al.*, 2012). A escolha dos surfactantes utilizados nesse tratamento foi em função de representarem diferentes classes químicas: Tergitol (não iônico), Brometo de Cetil trimônio (catiônico) e Dodecil sulfato de sódio (aniônico).

Na Tabela 26 é apresentada as massas de tolueno adsorvida pelo adsorvente tratado com surfactantes.

Tabela 25. Massa de tolueno adsorvida utilizando o adsorvente com tratamento utilizando diferentes surfactantes (pH = 6, T=23 °C, $m_{\text{xisto}} = 1,0$ g, $C_{\text{tolueno}} = 56$ mg/L).

| Surfactante | Qe (mg/g) |
|--------------|-------------|
| CTAB | 1,93 ±0,05 |
| Lauril | 3,41 ±0,11 |
| Tergitol | 2,65 ± 0,05 |
| s/tratamento | 3,99 ± 0,01 |

Através da Tabela 26 é possível observar que a capacidade de adsorção para os tratamentos apresentados na Figura 20 decresce na ordem: s/tratamento>Lauril>Tergitol>BCT catiônico. A Tabela 27 apresenta a ANOVA realizada para os dados contidos na Tabela 26 utilizando intervalo de confiança de 95 % e nível de significância de 5 %.

Tabela 26. Análise ANOVA para avaliação da influência do adsorvente modificado com diferentes surfactantes sobre a capacidade de adsorção do Tolueno.

| Efeito | Soma dos quadrados | Graus de liberdade | Média quadrática | Teste F | p |
|-------------|--------------------|--------------------|------------------|----------|----------|
| Intercepção | 71,52080 | 1 | 71,52080 | 17551,12 | 0,000000 |
| Surfactante | 4,84550 | 3 | 1,61517 | 396,36 | 0,000021 |
| Erro | 0,01630 | 4 | 0,00407 | | |

Através da análise de variância apresentada na Tabela 27 é possível observar que há uma diferença significativa entre as quantidades de tolueno adsorvidas utilizando o xisto modificado com os diferentes surfactantes e o xisto sem modificação, pois o valor de p encontrado foi menor do que nível de significância adotado ($0,000 < 0,05$) e valor de $F_{\text{calculado}}$ apresentou-se maior em relação ao F_{tabelado} ($396,36 < 6,59$). O teste de Tukey apresentado na Tabela 28,

mostra quais médias dos diferentes tratamentos realmente se diferenciaram entre si.

Tabela 27. Teste de Tukey para um nível de significância de 5 %

| Surfactante | qe médio (mg/g) | 1 | 2 | 3 | 4 |
|--------------|--------------------|------|------|------|------|
| CTAB | 1,93 | **** | | | |
| Tergitol | 2,65 | | **** | | |
| Lauril | 3,41 | | | **** | |
| s/tratamento | 3,99 | | | | **** |

O teste de Tukey apresentado na Tabela 28 mostra que realmente todas as médias obtidas nos diferentes tratamentos com surfactantes diferem-se entre si. Porém nenhum adsorvente tratado com surfactantes apresentou uma capacidade de adsorção maior em relação ao xisto sem tratamento. Segundo Nourmoradi *et al.*, (2012), certas concentrações de surfactantes podem levar a completa ocupação dos poros do adsorvente e causar a redução da penetração do adsorbato nesses poros.

Em alguns trabalhos encontrados na literatura foram investigadas a modificação de adsorventes para a remoção de BTEX, com aumento da capacidade de adsorção desses adsorventes após a modificação como: Seifi *et al.*, (2011) que utilizaram zeólita modificada com surfactantes catiônicos (Cloreto de hexadecil trimetil amônio e Cloreto de cetil-piridínio) e observaram um aumento na capacidade de adsorção dessa zeólita de quatro vezes mais dos compostos BTEX em comparação a zeólita sem tratamento, Nourmoradi *et al.*,(2012) modificaram montmorilonita com surfactantes não iônico (polietileno glicol) e também obtiveram um aumento de adsorção dos BTEX, o adsorvente em estudo não apresentou aumento satisfatório na adsorção do Tolueno.

Segundo Gitipour *et al.* (1998), para que seja possível o aumento de capacidade de adsorção de minerais para compostos orgânicos é preciso que haja a mudança de duas características básicas desses minerais: à distância interlamelar e a hidrofobicidade e essas mudanças podem ser feitas através da modificação desses minerais com surfactantes. Estudos conduzidos por alguns autores indicam que o cátion de amônio quaternário como o Hexadecil trimetil amônio (HDTMA) interagem com argilas e substituem o cátion inorgânico trocável da sua superfície. Como o cátion do HDMA é maior em

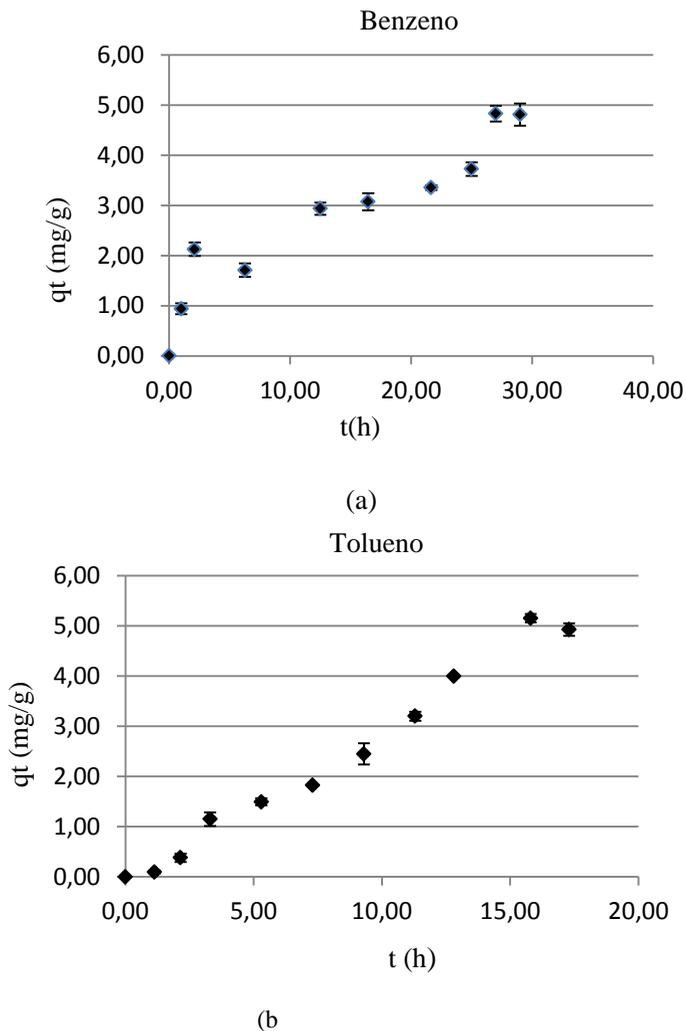
comparação ao cátion substituído, à distância interlamelar aumenta facilitando a atração de compostos orgânicos. Assim esses minerais adsorvem menos moléculas de água passando de hidrofílicos para organofílicos Para Evans e Pancoski (1989), *apud* Gitipour *et al.*, (1998) a troca iônica é o processo dominante responsável pela modificação orgânica de argilas. Portanto a capacidade de troca iônica do xisto retornado pode ter sido determinante para o baixo desempenho do tratamento desse adsorvente com os surfactantes testados, visto que o xisto representa uma mistura de diferentes tipos de minerais que podem contribuir para a sua capacidade de troca iônica (KROL *et al.*, 1986).

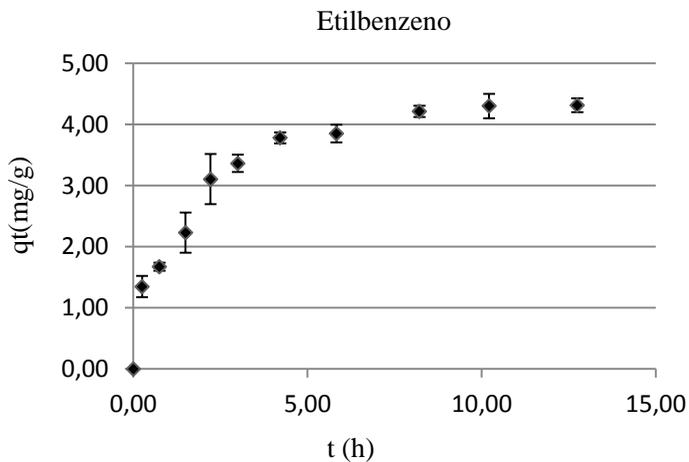
4.1.9 Cinéticas de adsorção

Os testes cinéticos em batelada foram realizados com o objetivo de determinar o tempo necessário para o alcance do equilíbrio entre o adsorbato e o adsorvente, conhecido como equilíbrio de adsorção. Todos os ensaios cinéticos foram realizados com as melhores condições obtidas a partir dos ensaios preliminares de adsorção que são: granulometria na faixa de 1 mm-1,40 mm, pH 4-5 e o xisto tratado com ácido acético 1M (xisto – Ac). Os resultados cinéticos serão representados por modelos matemáticos, determinando-se a capacidade da adsorção do adsorvente q_e (mg/g) em função do tempo (min).

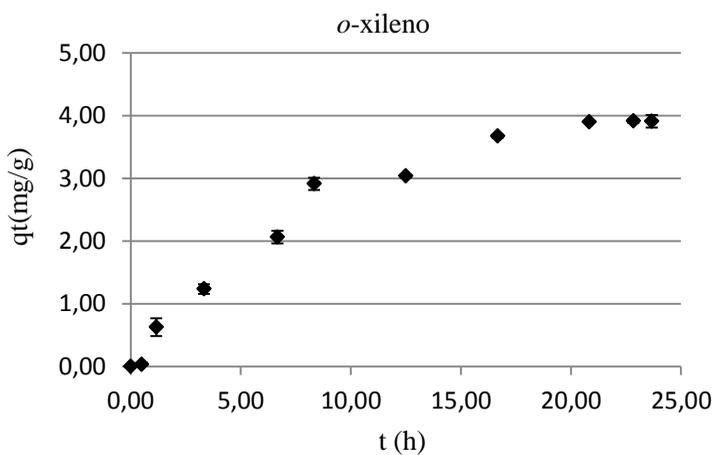
A Figura 14 apresenta as cinéticas de adsorção obtidas para os compostos orgânicos benzeno, tolueno, etilbenzeno e *o*-xilen.

Figura 14. Cinéticas de adsorção obtidas para o a) benzeno; b) tolueno; c) etilbenzeno; c) *o*-xileno (pH=4-5, granulometria=1-1,40 mm, T=23 °C, Co = 40 mg/L, m_{ads} = 1,0 g)





(c)



(d)

As massas de benzeno, tolueno etilbenzeno e *o*-xileno adsorvidas e o tempo de equilíbrio de adsorção de cada composto encontram-se na Tabela 29.

Tabela 28. Quantidades de cada composto adsorvido e o tempo de equilíbrio.

| Composto | qe (mg/g) | Tempo de equilíbrio (h) |
|------------------|------------------|--------------------------------|
| Tolueno | 5,15 ± 0,08 | 15,80 |
| Benzeno | 4,82 ± 0,07 | 27,00 |
| Etilbenzeno | 4,3 ± 0,11 | 10,21 |
| <i>o</i> -xileno | 3,91 ± 0,09 | 20,83 |

Como pode ser observado na Tabela 29, é possível observar que o composto que demorou mais tempo para ser adsorvido e chegar a uma concentração remanescente constante foi o benzeno, com 27 horas de cinética. O *o*-xileno vem em segundo lugar com 20,83 horas para entrar em equilíbrio cinético. Logo em seguida vem o tolueno e o etilbenzeno, com 15,8 e 10,21 horas, respectivamente.

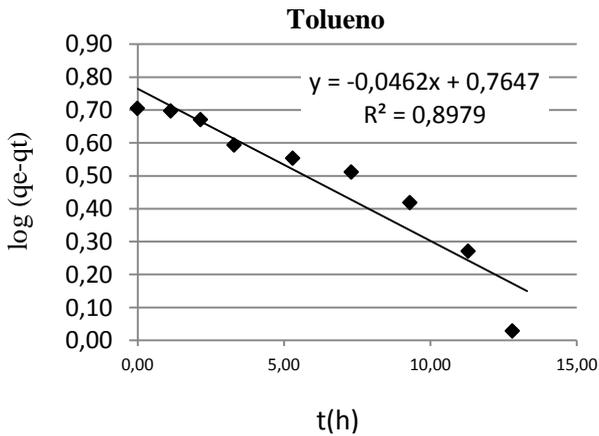
4.1.9.1 Ajustes cinéticos

Modelos cinéticos de adsorção foram utilizados para determinar o mecanismo de adsorção e a eficiência do adsorvente para remoção dos BTEX. Os dados cinéticos obtidos para a adsorção dos compostos orgânicos em xisto retornado foram avaliados por três modelos cinéticos que são: cinética de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e difusão intrapartícula.

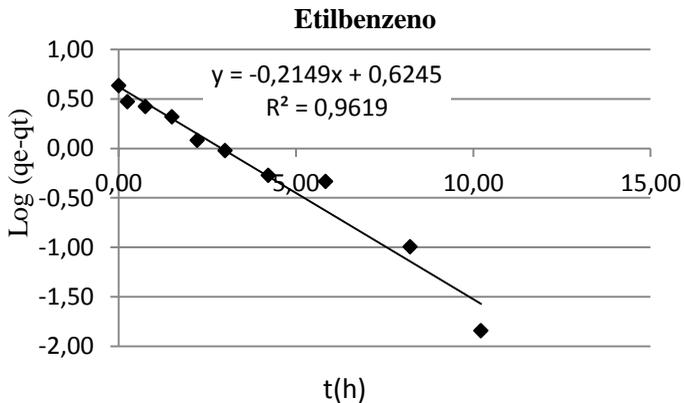
Pseudo-primeira ordem

A Figura 15 representa os dados de cinética de adsorção dos compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno, ajustados ao modelo cinético de pseudo-primeira ordem.

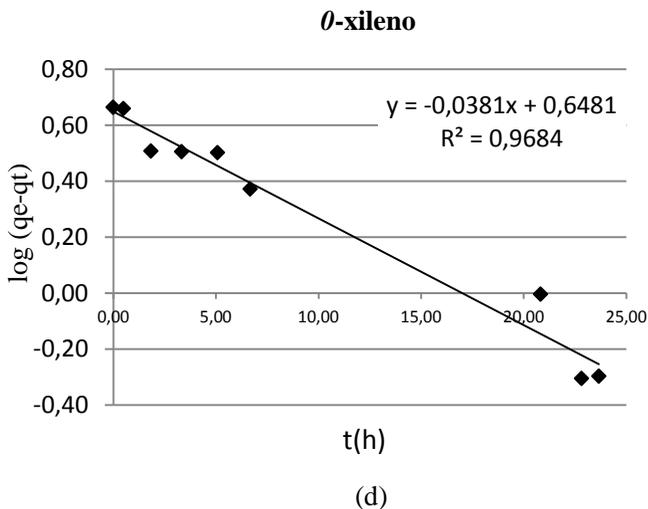
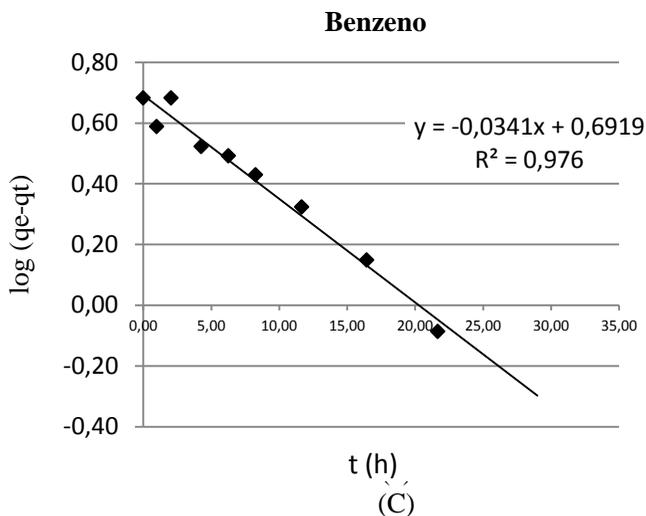
Figura 15 Ajuste cinético de Pseudo-primeira ordem para os compostos a) tolueno; b) etilbenzeno; c) *o*-xileno e d) benzeno



(a)



(b)



Como pode ser observado na Figura 15, as cinéticas de pseudo-primeira ordem apresentaram um bom comportamento linear quando ajustados aos dados experimentais, apresentando coeficientes de correlação entre 0,90 – 0,98, os valores das constantes da cinética de adsorção de pseudo-primeira ordem estão apresentados na Tabela 30.

Tabela 29. Constantes das cinéticas de adsorção de Pseudo-primeira ordem obtidas para os compostos BTEX.

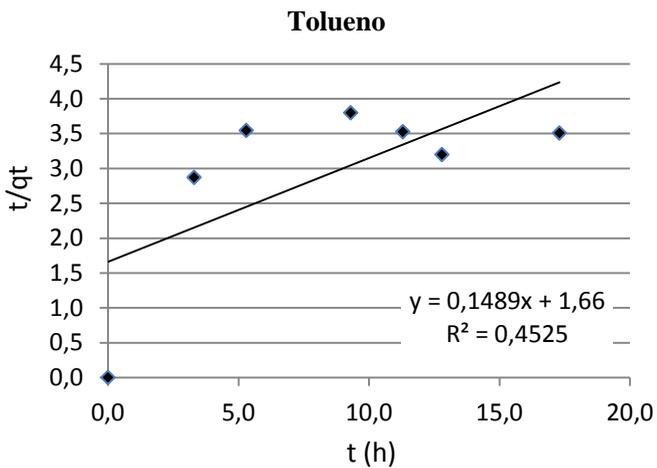
| Composto | Cinética Pseudo-primeira ordem | | | |
|------------------|---------------------------------------|----------------------------------|--|----------------|
| | q _e (mg/g) experimental | q _e (mg/g) teórico | K ₁ (L.h ⁻¹) | R ² |
| Tolueno | 5,07 | 5,81 | 0,106 | 0,90 |
| Benzeno | 4,81 | 4,91 | 0,079 | 0,96 |
| Etilbenzeno | 3,39 | 2,97 | 0,057 | 0,97 |
| <i>o</i> -xileno | 3,9 | 4,44 | 0,088 | 0,98 |

Através da Tabela 30 é possível observar que os valores da constante de velocidade de adsorção K₁ diminuiram na ordem de T>B>X>E. Segundo Nourmoradi *et al.*, (2012) a maior taxa para o tolueno e para o benzeno pode ser atribuída ao peso molecular dos BTEX. Devido ao menor peso molecular do benzeno e do tolueno, essas moléculas podem penetrar melhor para o interior dos sítios ativos de adsorção, em relação ao *o*-xileno e etilbenzeno. Para Al-Duri e Mckay (1992), a difusão interna está relacionada com a razão entre o diâmetro molecular do adsorbato e o diâmetro do poro do adsorvente. Assim, a distribuição do tamanho de poros influenciará na difusividade efetiva, considerando-se a possibilidade do contaminante se difundir nos macros ou microporos. Os valores de q_e (mg/g) teórico obtidos através do ajuste do modelo de pseudo-primeira ordem, não apresentaram um alto desvio dos valores de q_e (mg/g) experimentais mostrando que o modelo é adequado para representar os dados cinéticos experimentais.

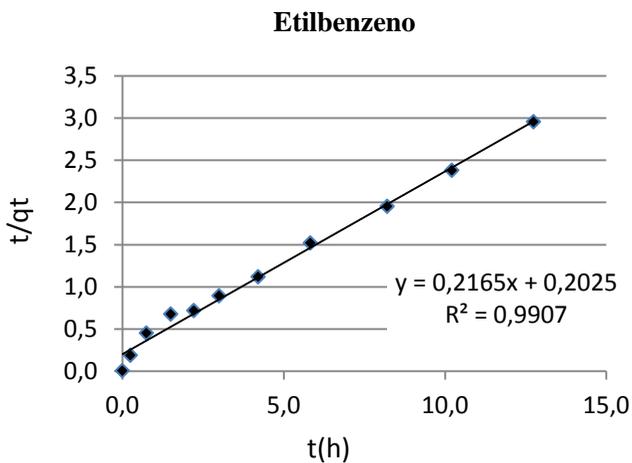
Cinética Pseudo-segunda ordem

A Figura 16 representa os dados de cinética de adsorção dos compostos benzeno, tolueno etilbenzeno e *o*-xileno, ajustados ao modelo cinético de Pseudo-segunda ordem.

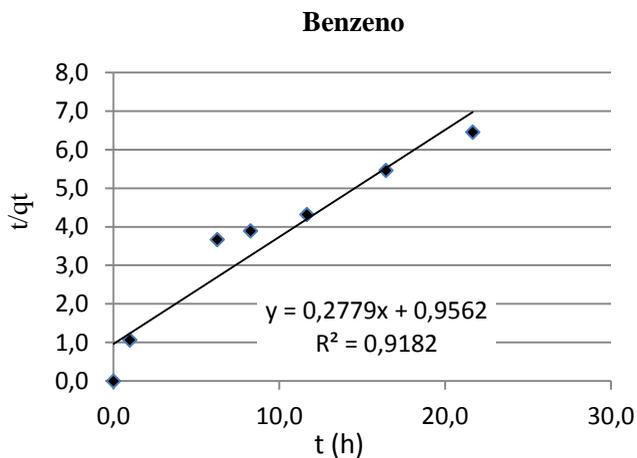
Figura 16. Ajuste cinético de Pseudo-segunda ordem para os compostos a) tolueno; b) etilbenzeno; c) *o*-xileno; e d) benzeno



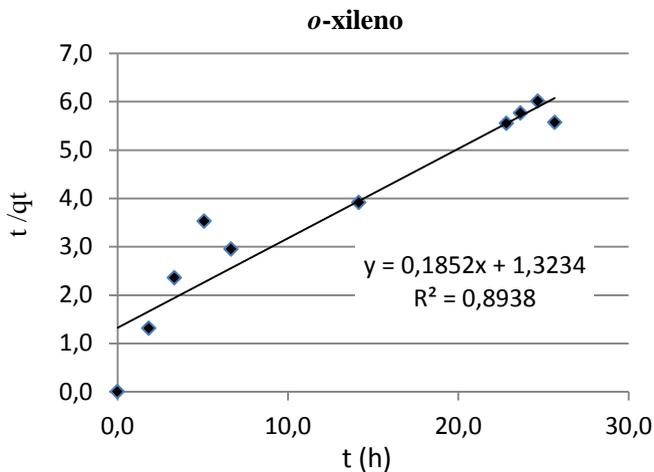
(a)



(b)



(c)



(d)

Analisando os gráficos apresentados na Figura 23, é possível observar que os dados cinéticos experimentais não se ajustaram ao modelo cinético de Pseudo-segunda ordem, apresentando baixos valores para o coeficiente de correlação, como mostra a Tabela 31.

Tabela 30. Constantes das cinéticas de adsorção de Pseudo-segunda ordem obtidas para os compostos BTEX.

| Composto | Cinética pseudo-segunda ordem | | | | |
|------------------|-------------------------------|-------------------------|--|---|----------------|
| | qe (mg/g) Experimental | qe (mg/g) teórico | K ₂ (g/mg ⁻¹ h ⁻¹) | h (mg·g ⁻¹ ·h ⁻¹) | R ² |
| Tolueno | 5,07 | 6,71 | 0,013 | 0,60 | 0,45 |
| Benzeno | 4,81 | 3,60 | 13,541 | 175,34 | 0,92 |
| Etilbenzeno | 3,39 | 1,73 | 0,159 | 0,48 | 0,99 |
| <i>o</i> -xileno | 3,9 | 5,40 | 22,03 | 642,31 | 0,89 |

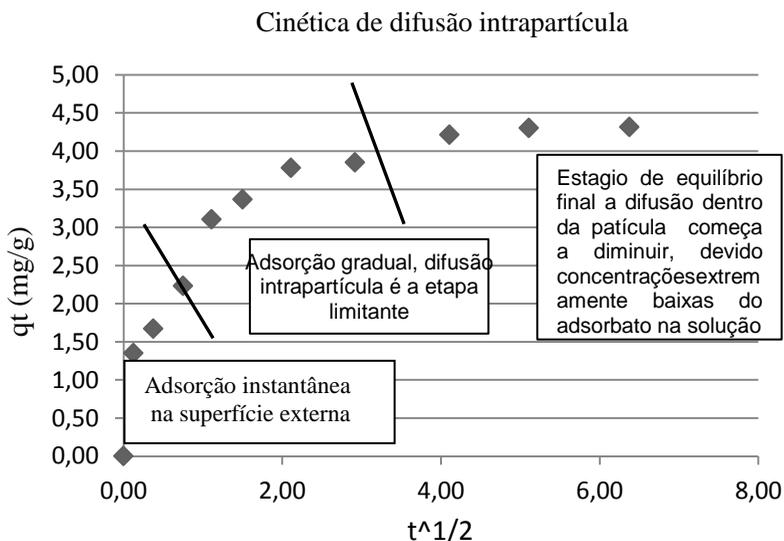
Os resultados de qe (mg/g) teórico apresentados na Tabela 31, não são representativos da cinética de pseudo-segunda ordem, pois estes se afastaram dos dados obtidos experimentalmente, para todos os compostos estudados. Portanto, esse modelo não se mostrou adequado para descrever o fenômeno de adsorção dos compostos BTEX em estudo.

Cinética de difusão intrapartícula

Este modelo assume que a adsorção é controlada por três estágios, o inicial que é atribuído a adsorção na superfície externa do adsorvente, o segundo estágio ilustra a adsorção gradual onde a difusão intrapartícula é a taxa limitante, e o último estágio refere-se à fase final de equilíbrio, em que a difusão intrapartícula começa a diminuir devido à baixa concentração de corante na solução e um decréscimo no número de sítios ativos disponíveis.

A Figura 17 representa a difusão intrapartícula para o etilbenzeno.

Figura 17. Cinética de difusão intrapartícula para o etilbenzeno.



Através da Figura 17, é possível observar os três estágios, pelos quais a adsorção é controlada que são: adsorção instantânea, adsorção gradual e equilíbrio final. A Tabela 32 apresenta as constantes do modelo cinético de difusão intrapartícula para os ensaios adsorptivos dos quatro compostos orgânicos estudados.

Tabela 31. Constantes do modelo cinético de difusão intrapartícula para os ensaios adsorptivos dos quatro compostos orgânicos estudados.

| Composto | Etapa | K_{in} (mg/g.h ^{1/2}) | R^2 |
|------------------|-------|-----------------------------------|-------------|
| Tolueno | 1 | 0,370 | 0,84 |
| | 2 | 0,7828 | 0,99 |
| | 3 | 0,0664 | 1,00 |
| Benzeno | 1 | 0,0074 | 0,90 |
| | 2 | 0,0016 | 0,93 |
| | 3 | 0,0091 | 0,73 |
| Etilbenzeno | 1 | 2,522 | 0,77 |
| | 2 | 2,000 | 1 |
| | 3 | 2,000 | 1 |
| <i>o</i> -xileno | 1 | 0,0012 | 0,99 |
| | 2 | 0,0053 | 0,96 |
| | 3 | 0,0024 | 0,88 |

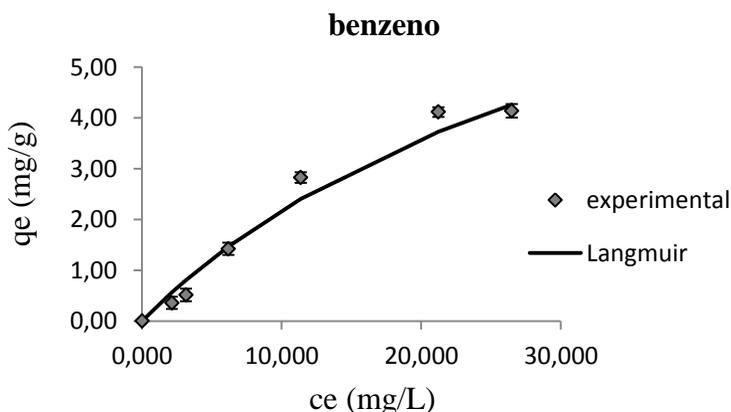
Como pode ser observado na Tabela 32 cada composto apresentou uma etapa predominante diferente no processo de adsorção em xisto retornado, de acordo com o melhor coeficiente de correlação da reta. Para o benzeno o melhor ajuste deu-se para a etapa lenta que é a difusão nos poros (etapa 2). O tolueno apresentou etapa 3 como etapa limitante que é o estágio de equilíbrio da adsorção, já o etilbenzeno teve um bom ajuste tanto para a etapa 2 quanto para etapa 3, indicando serem essas duas etapas limitantes no processo de adsorção desse composto. E para *o*-xileno a etapa limitante do processo foi a adsorção instantânea na superfície externa. Os valores de K_{in} apresentados na tabela 32 diminuem na ordem de $E>T>X>B$, mesma ordem encontrada para o tempo de equilíbrio de cada composto através das cinéticas de adsorção.

4.1.10 Isotermas de adsorção

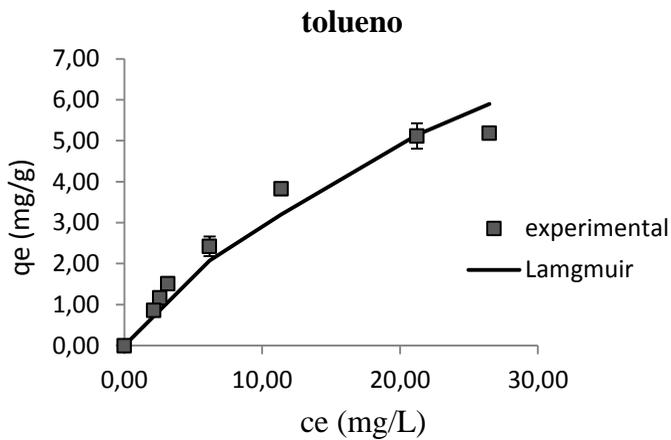
As isotermas de adsorção foram obtidas separadamente, para encontrar a quantidade máxima dos compostos BTEX adsorvidos, por grama de xisto. Os gráficos com os dados experimentais e os ajustes de Langmuir estão apresentados na Figura 18.

Os parâmetros do modelo da isoterma de Langmuir para os compostos BTEX foram calculados e se encontram na Tabela 33.

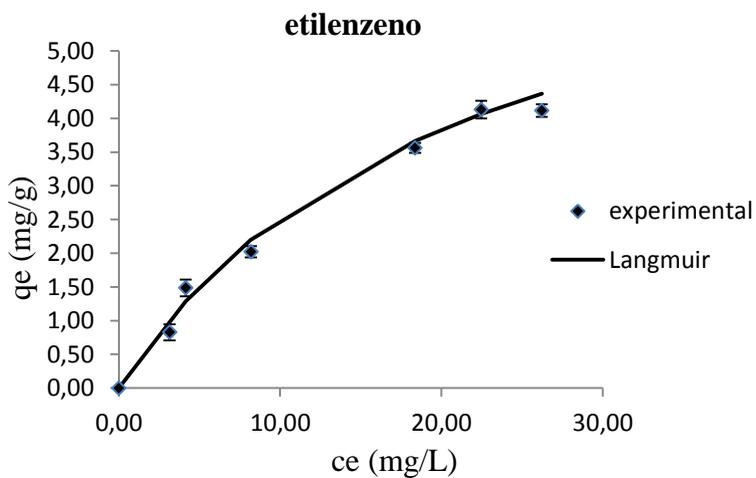
Figura 18. Isoterma de adsorção do a) benzeno b) tolueno c) etilbenzeno d) *o*-xileno, experimental e ajustado para o modelo de Langmuir.



(a)



(b)



(c)

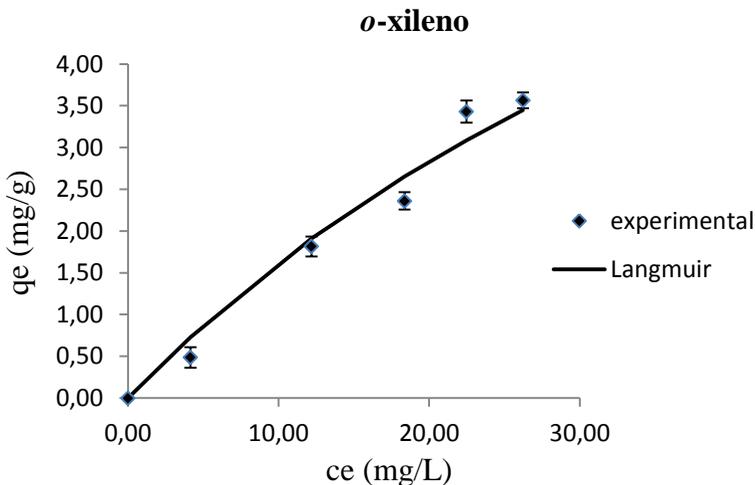


Tabela 32. Parâmetros do modelo da isoterma de Langmuir para os compostos BTEX

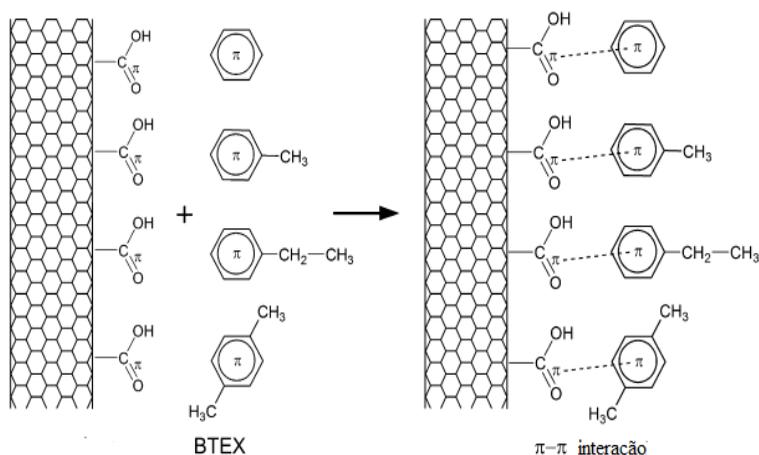
| Parâmetro | Benzeno | Tolueno | Etilbenzeno | <i>o</i> -xileno |
|--|---------|---------|-------------|------------------|
| q_{\max} ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) | 10,209 | 11,482 | 8,407 | 7,685 |
| b_L ($\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$) | 0,028 | 0,674 | 0,047 | 0,016 |
| R^2 | 0,989 | 0,997 | 0,996 | 0,987 |

Analisando a Tabela 33 é possível observar que a capacidade máxima de adsorção (q_{\max}) do xisto – Ac para cada composto orgânico estudado decresce na ordem de: $T > B > E > X$. Resultados semelhantes obtiveram Seifi *et al.*, (2011) que utilizaram nano partículas de zeólitas naturais modificadas com surfactantes para remoção de compostos BTEX e obtiveram uma ordem de adsorção dos compostos de $B > T > E > X$. Gitipour *et al.*, (2012) utilizaram bentonita modificada com surfactante e obtiveram a ordem na capacidade de adsorção para os compostos BTEX de $X > E > T > B$, esses autores atribuem a baixa adsorção do benzeno a presença de longas cadeias alquílicas presente no agente utilizado para modificação da bentonita. Nourmoradi *et al.* (2012), Aivalioti *et al.*, (2010 e 2012) e Luz (2012) obtiveram a mesma ordem de adsorção do trabalho anterior para os compostos BTEX e

atribuíram esse resultado à solubilidade e também à massa molecular desses compostos que decrescem na ordem de $B > T > E > X$.

A seletividade encontrada para adsorção dos compostos BTEX em xisto -Ac pode ser explicada segundo Lu *et al.*, (2008), que estudou a capacidade de adsorção dos compostos BTEX em nano tubos de carbono (CNT) sem tratamento e tratados com NaOCl, HNO₃ e H₂SO₄. Esses autores observaram diferentes ordens de adsorção dos compostos BTEX dependendo do tratamento utilizado, que foram (CNT): $X > E > T > B$, para CNT (NaOCl): $B > T > E > X$, CNT (HNO₃): $T > E > X > B$, CNT (H₂SO₄): $E > X > B > T$. Eles atribuem a adsorção desses compostos à natureza química da superfície do adsorvente, mais especificamente aos grupos carboxílicos presentes. Uma vez que a variação do pH não é significativa durante a adsorção, a relação entre a adsorção desses compostos e os grupos carboxílicos é observada. O mecanismo de adsorção é sugerido através da interação entre os elétrons $\pi - \pi$ do átomo de oxigênio carboxílico da superfície do adsorvente e os eletros do anel aromático dos compostos BTEX. Pimentel *et al.*, (2006) identificaram os grupos funcionais de superfície em xisto retortado através de espectros de absorção na região do infravermelho (FITR) e confirmaram a presença de grupos carboxílicos presentes na superfície desse adsorvente. A Figura 19 ilustra o mecanismo de adsorção proposto.

Figura 19. Mecanismo de adsorção proposto para os compostos BTEX em xisto -Ac.



Fonte: LU *et al.*, (2008)

A capacidade de adsorção também depende da acessibilidade das moléculas orgânicas a superfície interna do adsorvente, que depende do tamanho dessas moléculas. Assim, sob condições experimentais apropriadas, as moléculas pequenas, podem acessar microporos, as de tamanho médio podem acessar mesoporos, e as grandes podem ter acesso aos macroporos. (CASTILIA, 2004).

Portanto a ordem de adsorção para os compostos BTEX utilizando o xisto – Ac possivelmente pode ser explicada também, através da acessibilidade dos compostos menores como o benzeno e tolueno, aos poros menores do adsorvente, onde o etilbenzeno e o *o*-xileno não conseguem penetrar devido ao impedimento estérico causado pelos grupos substituintes dessas moléculas. Segundo Gitipour *et al.*, (2012), diversos mecanismos ou combinações de mecanismos são hipotetizados para responder a adsorção de compostos orgânicos em argilas. Entre eles estão: adsorção física, adsorção química, ligações de hidrogênio e complexos de coordenação. Na pratica nem todos os mecanismos ocorrem simultaneamente; contudo dois ou mais mecanismos podem acontecer ao mesmo tempo, dependendo da natureza dos grupos funcionais orgânicos e da acidez do sistema.

4.2 EXPERIMENTOS DE BIODEGRADAÇÃO

4.2.1 Identificação dos micro-organismos

A identificação dos micro-organismos foi realizada em duas amostras diferentes a nível taxonômico de gênero e espécie. São elas:

- Amostra 1: Lodo *in natura*
- Amostra 2: Micro-organismos adaptados aos BTEX

Ao todo foram encontrados para as duas amostras analisadas, 165 gêneros diferentes, os quais estão apresentados na Tabela 34.

Tabela 33. Gêneros de bactérias encontrados nas amostras 1 e 2.

Gêneros de bactérias encontrados na amostra 1 e 2

| | |
|------------------------|------------------------|
| <i>Acetobacterium</i> | <i>Citrobacter</i> |
| <i>Achromobacter</i> | <i>Cloacibacterium</i> |
| <i>Aciditerrimonas</i> | <i>Clostridium</i> |
| <i>Acidobacterium</i> | <i>Collimonas</i> |
| <i>Acidovorax</i> | <i>Comamonas</i> |

| | |
|--------------------------------|--------------------------|
| <i>Acinetobacter</i> | <i>Conexibacter</i> |
| <i>Actinotalea</i> | <i>Corynebacterium</i> |
| <i>Afipia</i> | <i>Dechloromonas</i> |
| <i>Alcaligenes</i> | <i>Defluviicoccus</i> |
| <i>Alcanivorax</i> | <i>Defluviimonas</i> |
| <i>Alicyclophilus</i> | <i>Desulfobulbus</i> |
| <i>Alistipes</i> | <i>Desulfosporosinus</i> |
| <i>Altererythrobacter</i> | <i>Desulfovibrio</i> |
| <i>Amaricoccus</i> | <i>Devosia</i> |
| <i>Amorphus</i> | <i>Diaphorobacter</i> |
| <i>Anaerococcus</i> | <i>Dokdonella</i> |
| <i>Anaerophaga</i> | <i>Duganella</i> |
| <i>Arcobacter</i> | <i>Dyella</i> |
| <i>Azospira</i> | <i>Empedobacter</i> |
| <i>Bacillus</i> | <i>Enhydrobacter</i> |
| <i>Bacteroides</i> | <i>Enterobacter</i> |
| <i>Bdellovibrio</i> | <i>Enterococcus</i> |
| <i>Beijerinckia</i> | <i>Enterovibrio</i> |
| <i>Bifidobacterium</i> | <i>Erwinia</i> |
| <i>Bosea</i> | <i>Eubacterium</i> |
| <i>Brachymonas</i> | <i>Faecalibacterium</i> |
| <i>Bradyrhizobium</i> | <i>Flavobacterium</i> |
| <i>Branchiibius</i> | <i>Frigoribacterium</i> |
| <i>Brevundimonas</i> | <i>Gaiella</i> |
| <i>Burkholderia</i> | <i>Gemmatimonas</i> |
| <i>Buttiauxella</i> | <i>Gemmobacter</i> |
| <i>Caldilinea</i> | <i>Gordonia</i> |
| <i>Candidatus Amoebophilus</i> | <i>Halomonas</i> |
| <i>Candidatus Nardonella</i> | <i>Hermiimonas</i> |
| <i>Carnobacterium</i> | <i>Hydrocarboniphaga</i> |
| <i>Caulobacter</i> | <i>Hyphomicrobium</i> |
| <i>Cellulosilyticum</i> | <i>Janthinobacterium</i> |
| <i>Chelatococcus</i> | <i>Kaistia</i> |
| <i>Chitinophaga</i> | <i>Kineosphaera</i> |
| <i>Chlorobium</i> | <i>Klebsiella</i> |
| <i>Christensenella</i> | <i>Lactobacillus</i> |
| <i>Chryseobacterium</i> | <i>Lautropia</i> |
| <i>Legionella</i> | <i>Rhodanobacter</i> |

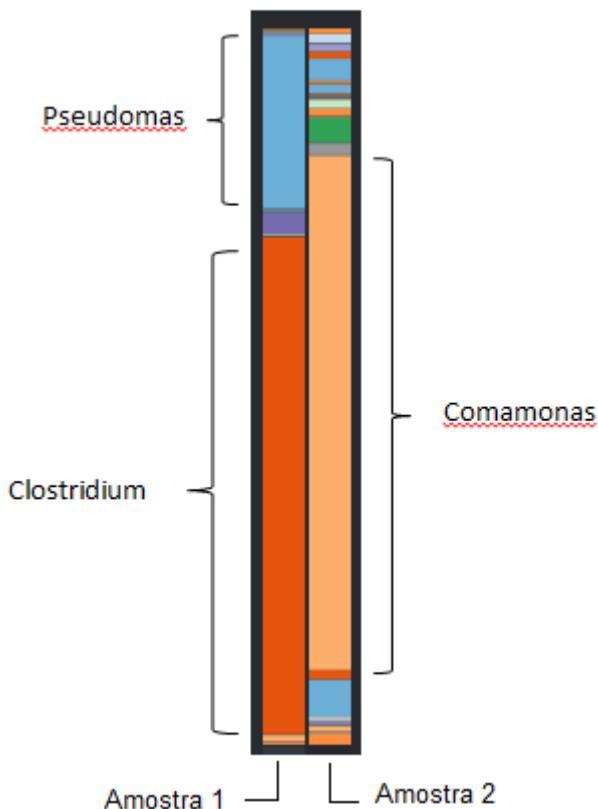
| | |
|---------------------------|-------------------------|
| <i>Lentzea</i> | <i>Rhodobacter</i> |
| <i>Leptothrix</i> | <i>Rhodoblastus</i> |
| <i>Leucobacter</i> | <i>Rhodococcus</i> |
| <i>Limnobacter</i> | <i>Rhodomicrobium</i> |
| <i>Longilinea</i> | <i>Roseburia</i> |
| <i>Luteimonas</i> | <i>Ruminococcus</i> |
| <i>Lysobacter</i> | <i>Sedimentibacter</i> |
| <i>Macellibacteroides</i> | <i>Segniliparus</i> |
| <i>Maihuenia</i> | <i>Serratia</i> |
| <i>Massilia</i> | <i>Shewanella</i> |
| <i>Mesorhabditis</i> | <i>Shinella</i> |
| <i>Mesorhizobium</i> | <i>Sphaerotilus</i> |
| <i>Methanospaerula</i> | <i>Sphingobacterium</i> |
| <i>Methylobacterium</i> | <i>Sphingobium</i> |
| <i>Methylocella</i> | <i>Sphingomonas</i> |
| <i>Methylococcus</i> | <i>Sphingopyxis</i> |
| <i>Methylocystis</i> | <i>Staphylococcus</i> |
| <i>Methylosinus</i> | <i>Stenotrophomonas</i> |
| <i>Microbacterium</i> | <i>Steroidobacter</i> |
| <i>Mycobacterium</i> | <i>Streptococcus</i> |
| <i>Niabella</i> | <i>Streptomyces</i> |
| <i>Nitratireductor</i> | <i>Subdoligranulum</i> |
| <i>Novosphingobium</i> | <i>Sulfurospirillum</i> |
| <i>Olsenella</i> | <i>Terraheamophilus</i> |
| <i>Ottowia</i> | <i>Terrimonas</i> |
| <i>Oxalicibacterium</i> | <i>Tetrasphaera</i> |
| <i>Paenibacillus</i> | <i>Thermomonas</i> |
| <i>Parabacteroides</i> | <i>Thiobacillus</i> |
| <i>Pelosinus</i> | <i>Triticum</i> |
| <i>Phenylobacterium</i> | <i>Tsukamurella</i> |
| <i>Planctomyces</i> | <i>Tumebacillus</i> |
| <i>Pleomorphomonas</i> | <i>Variovorax</i> |
| <i>Proteiniclasticum</i> | <i>Woodsholea</i> |
| <i>Pseudaminobacter</i> | <i>Xanthobacter</i> |
| <i>Pseudomonas</i> | <i>Xanthomonas</i> |
| <i>Psychrobacter</i> | <i>Yersinia</i> |
| <i>Rahnella</i> | <i>Zoogloea</i> |

Ralstonia
Rhizobium

Segundo Junior (2013), as comunidades bacterianas presentes em flocos e biofilmes são relativamente diversificadas. Muitos estudos de identificação de linhagens presentes nesses sistemas foram realizados. Dentre os gêneros comumente encontrados podem ser mencionados os seguintes: *Pseudomas*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Citromonas*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Brevibacterium*, *Acinetobater*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Sphaerotilus*, *Zooglea*, *Beggiatoa*, *Nocardia*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*. Nessas comunidades há predominância de bactérias aeróbias heterotróficas (utilizam fonte de carbono orgânico), que convivem com populações menos numerosas de bactérias autotróficas (utilizam fonte de carbono inorgânico).

Na Figura 20, é possível observar o perfil microbiológico dos gêneros encontrados em maior proporção, para as duas amostras analisadas, onde as barras representam as amostras, cada cor representa um gênero encontrado e o tamanho de cada barra representa a relação de quantidade entre os gêneros.

Figura 20. Perfil microbiológico do lodo *in natura* (amostra 1) e dos micro-organismos adaptados (amostra 2), para os gêneros encontrados.



Analisando a Figura 20 é possível observar que na amostra 1, lodo *in natura*, apresentou maior quantidade do gênero *Clostridium* e *Pseudomonas*. Na amostra 2, micro-organismos adaptados, o gênero em maior abundância foi o *Comamonas*.

A Tabela 36 mostra as porcentagens relativas dos gêneros encontrados em ambas às amostras.

Tabela 36. Porcentagens relativas dos gêneros encontrados em ambas as amostras.

| Amostra 1 (lodo <i>in natura</i>) | |
|---|--------------------------|
| Gênero | Porcentagem relativa (%) |
| <i>Pseudomonas</i> | 14,32 |
| <i>Clostridium</i> | 41,33 |
| <i>Comamonas</i> | 0,01 |
| Amostra 2 (micro-organismos adaptados) | |
| <i>Pseudomonas</i> | 0,54 |
| <i>Clostridium</i> | 0,62 |
| <i>Comamonas</i> | 33,72 |

Como pode ser observado na Tabela 36, as amostras apresentaram mudança antes e após a adaptação dos micro-organismos. O gênero *Pseudomonas* que na amostra *in natura*, apresentou uma porcentagem relativa de 14,32%, após a adaptação do lodo aos BTEX, essa porcentagem diminuiu para 0,54%, o que pode ser atribuído a não resistência desse gênero aos BTEX. O mesmo aconteceu com o gênero *Clostridium*, que na amostra *in natura* apresentou 41,33% e após a adaptação aos BTEX, essa porcentagem diminuiu para 0,62%. Após o contato dos micro-organismos aos compostos orgânicos aromáticos, foi possível observar o desenvolvimento de um gênero de Bactérias certamente resistentes ao BTEX, o *Comamonas*. Esse gênero passou de 0,01 % na amostra *in natura*, para 33,72 % após a adaptação.

O número de espécies bacterianas encontradas nas duas amostras identificadas foram 593 espécies (tabela 1 e 2, Anexo II). Dentro do gênero *Comamonas*, o gênero em maior quantidade na amostra 2, foram identificadas oito espécies de bactérias: *Comamonas aquática*, *Comamonas koreensis*, *Comamonas sp.MBIC3885*, *Comamonas sp.PJ111*, *Comamonas sp.RPWA5.3*, *Comamonas sp.TZI*, *Comamonas testosteroni* e *Comamonas sp.* A espécie *Comamonas testosteroni*, foi encontrada em maior abundância, dentre as espécies citadas.

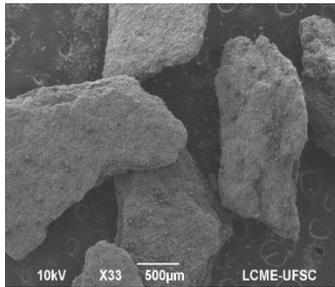
Zhao *et al.* (2015) utilizaram um lodo ativado para isolar um degradante eficiente para o herbicida Propizamida, que foi identificado como *Comamonas testosteroni*. Os resultados forneceram conhecimentos importantes sobre o mecanismo de biodegradação da Propizamida.

Boon *et al.*, (2000) isolaram a partir de lodo ativado, uma cepa de *Comamonas testosteroni* identificada como I2 e verificaram que essa bactéria era capaz de mineralizar 3-cloroanilina (3-CA) em águas residuárias. Os resultados indicaram que o biocrescimento, mesmo de uma cepa proveniente do próprio ecossistema e capaz de crescer de forma eficaz sobre um substrato seletivo, necessitará de ressuplementação.

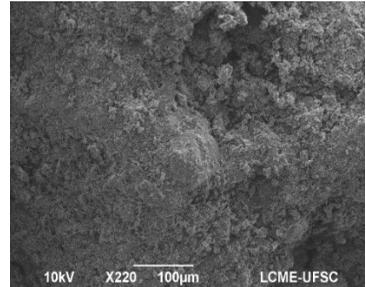
4.2.2 Microscopia eletrônica de varredura

As imagens da superfície do xisto, com a formação do biofilme, formando assim, biopartículas, podem ser analisadas na Figura 21

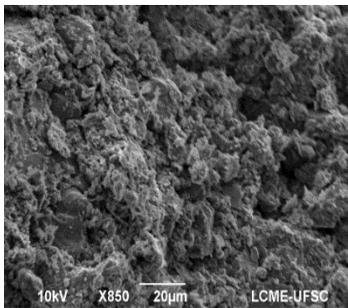
Figura 21. Micrografias da superfície externa de xisto com biofilme (biopartículas) com ampliação de: a) 33 vezes; b) 220 vezes; c, d) 850 vezes; e) 2000 vezes; f) 3000 vezes.



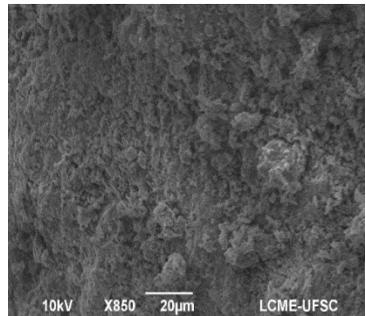
(a)



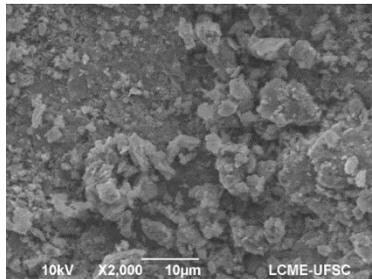
(b)



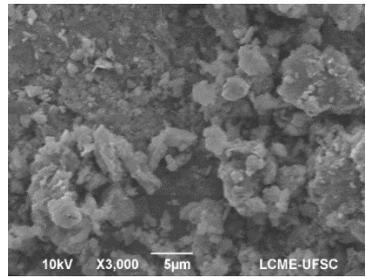
(c)



(d)



(e)



(f)

Conforme pode ser observado na Figura 21, houve o crescimento e imobilização dos micro-organismos na superfície das partículas de xisto, formando um biofilme com espessura fina. Observou-se também uma diferença na quantidade de biofilme formado

nas partículas, existindo regiões da superfície do xisto com grande quantidade enquanto outras regiões apresentaram pouca formação do mesmo. Os resultados apresentados na literatura, atribuem as características dos suportes, a boa formação dos biofilmes, pois quanto maior for a área disponível para a colonização microbiana, maior será a capacidade de retenção da biomassa e, conseqüentemente, pode-se esperar que o desempenho do reator seja melhor (MELLO, 2012).

Segundo Canilha *et al.*, (2006), os materiais utilizados como suporte deveriam idealmente ser encontrados com facilidade e abundância, ter baixo custo, resultar em baixo custo de imobilização, facilidade de operação em grande escala, não apresentar toxidez as células, apresentar alta capacidade de retenção a ter resistência mecânica para longa vida de operacional. Os suportes inorgânicos são mais vantajosos que os orgânicos pela durabilidade, densidade, estabilidade e controle de porosidade.

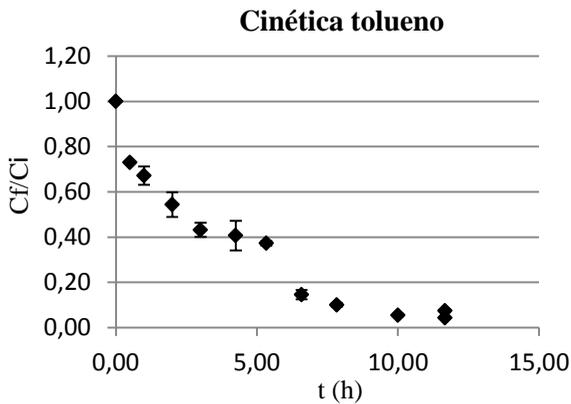
4.2.3 Curvas de degradação dos compostos BTEX

As curvas de biodegradação dos compostos BTEX foram obtidas com a finalidade de verificar o tempo necessário para a degradação completa desses compostos. Foram estudados a biodegradação dos compostos monocomponente, bicomponente, tricompente e quadricompente, todos com a concentração inicial de 60 mgL^{-1} .

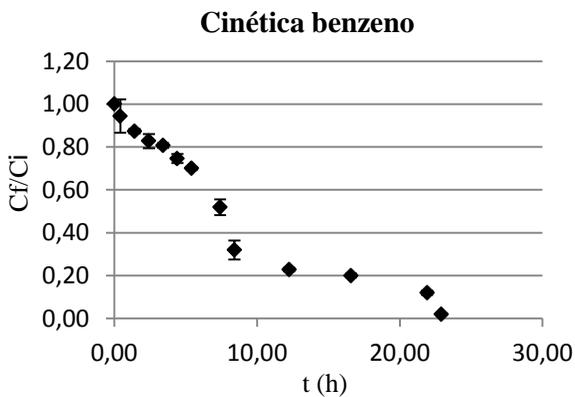
4.2.3.1 Biodegradação dos compostos monocomponentes

Os resultados das cinéticas monocomponentes dos compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno, encontram-se na Figura 22.

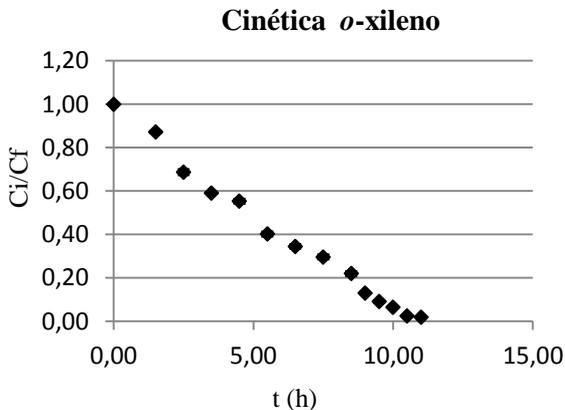
Figura 22. Cinéticas de biodegradação dos compostos orgânicos monocomponentes, $C_0 = 60 \text{ mg/L}$, $T=22 \text{ }^\circ\text{C}$: a) tolueno; b) benzeno; c) *o*-xileno; d) etilbenzeno.



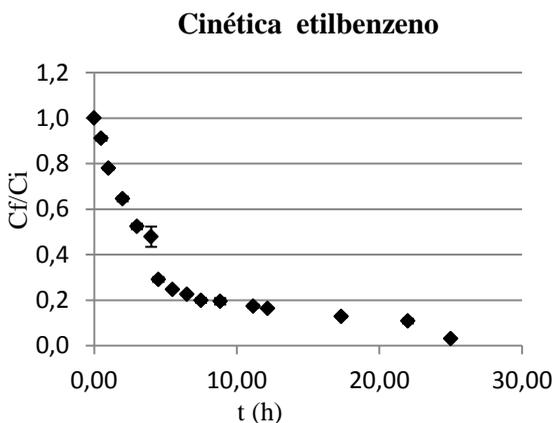
(a)



(b)



(c)



(d)

Como pode ser observado na Figura 22, todos os compostos BTEX testados foram degradados totalmente pela biomassa imobilizada em xisto. A ordem crescente para o tempo de biodegradação de cada composto estudado foi *o*-xileno < tolueno < benzeno < etilbenzeno. O etilbenzeno, foi o composto que apresentou maior tempo para ser biodegradado, levando 25 horas para a sua completa degradação, em segundo lugar vem o benzeno, necessitando de 22 horas. O *o*-xileno e o

tolueno apresentaram tempos de aproximadamente 11 h para a sua completa biodegradação.

Também é possível verificar, através dos gráficos da Figura 22, que a quantidade de substrato consumido pela biomassa varia em relação ao tempo, para cada composto estudado. Os compostos que degradaram mais rapidamente 50 % da concentração do substrato foram: tolueno>etilbenzeno>o-xileno>benzeno, com os tempos de 2,0, 3,0, 4,5 e 7,4 h, respectivamente. No entanto, para a completa degradação dos 50 % da concentração de substrato remanescente no biorreator, o etilbenzeno demorou 22 h, o benzeno 14,6 h, o tolueno 9 horas e o o-xileno 6 h, mostrando que no início do processo tem-se uma maior concentração de substrato e ele é consumido em uma velocidade maior; à medida que a concentração de substrato vai diminuindo e a concentração do produto vai aumentando, a velocidade de degradação diminui também, mesmo mantendo-se constante a temperatura e o pH, mostrando então que a velocidade de reação é proporcional à concentração do substrato.

Segundo Nass *et al.*, (2014), as vias metabólicas para a degradação dos BTEX, são provenientes de dois sistemas enzimáticos: dioxigenase e monooxigenase. A monooxigenase ataca os substituintes metil e etil do anel aromático, que são transformados por oxidações individuais em seu substituinte correspondente pirocatecol ou fenilglioal, respectivamente. A dioxigenase ataca o anel aromático com formação de composto com substituinte 2-hidroxi. Para o benzeno, o principal intermediário é o catecol. Enquanto que o tolueno e o etilbenzeno são degradados em diferentes vias, que leva à produção de seus respectivos intermediários, 3-metilcatecol e 3-etilcatecol. Xilenos são todos metabolizados para catecol mono-metilato. Portanto, a formação de intermediários durante a biodegradação de cada BTEX, pode inibir ou desacelerar esse processo.

Mello (2007), ao estudar a biodegradação dos compostos BTEX, utilizando biomassa imobilizada em carvão ativado, encontrou uma ordem de tempo de biodegradação desses compostos de: tolueno<benzeno<o-xileno= etilbenzeno, com tempos de 4,16; 5,00 e 5,83, respectivamente, para cada composto.

Jesús *et al.*, (2010) avaliaram a eficiência na biodegradação dos BTEX, utilizando um consórcio de micro-organismos a partir da gasolina e também utilizaram bactérias isoladas desse consórcio. Os autores observaram que para a degradação de 99,8 % dos BTEX, o consórcio de micro-organismos levou 60 h, sendo que em 12 h a concentração do benzeno e o tolueno diminuíram 19 e 17 % e a concentração do etilbenzeno e do o-xileno diminuíram 14 e 9 %.

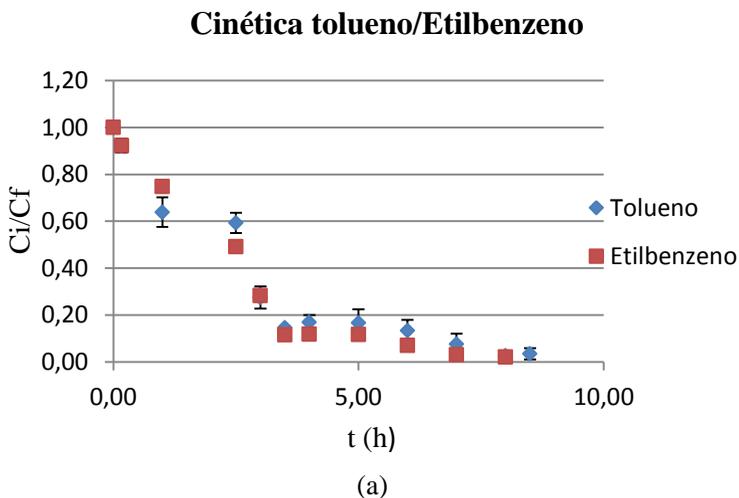
Contudo, até 36 h, o benzeno e o xileno são degradados 60 % e 50 % da sua concentração inicial, e o etilbenzeno e o tolueno foram degradados 81,5 % e 78 %.

Zhang *et al.*, (2013) utilizaram uma nova cepa de *Mycobacterium cosmeticum* para degradar benzeno, tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno, isolados ou em misturas. Quando os quatro compostos estavam presentes sozinhos, em uma concentração inicial de 100 mg/L, a faixa de tempo de degradação para os compostos foram entre 36 – 42 h. O mais rapidamente degradado foi o tolueno, seguido do benzeno, etilbenzeno e *o*-xileno.

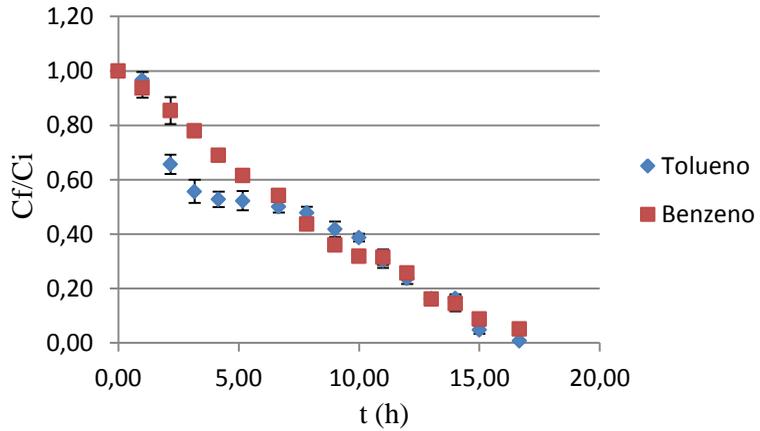
4.2.3.2 Cinéticas de biodegradação bicomponente

Neste tópico, foram estudadas as interações bicomponentes na degradação dos compostos BTEX, e os resultados podem ser observados na Figura 23.

Figura 23. Cinética de biodegradação bicomponente ($C_0=60 \text{ mgL}^{-1}$)

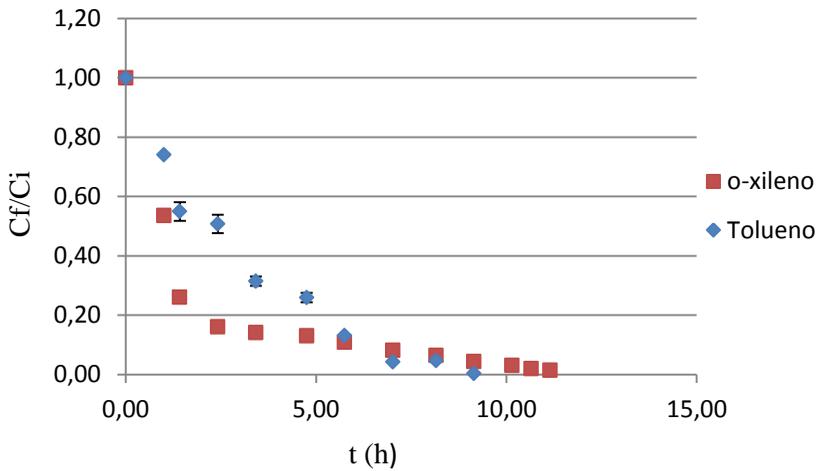


Cinética Tolueno/benzeno



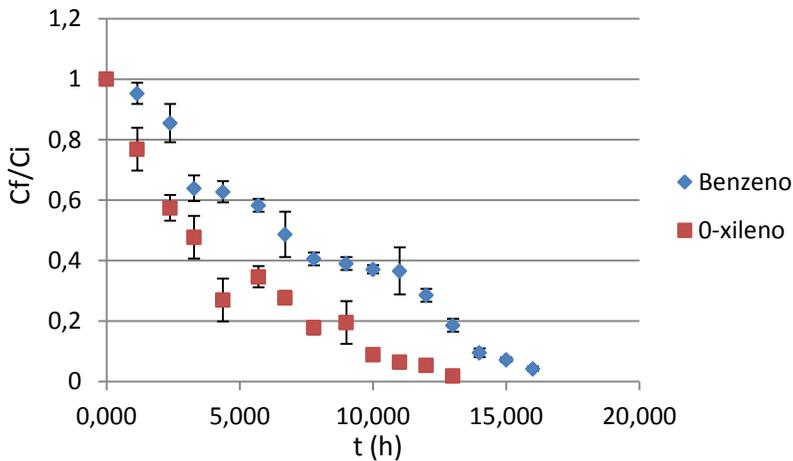
(b)

Cinética tolueno/*o*-xileno



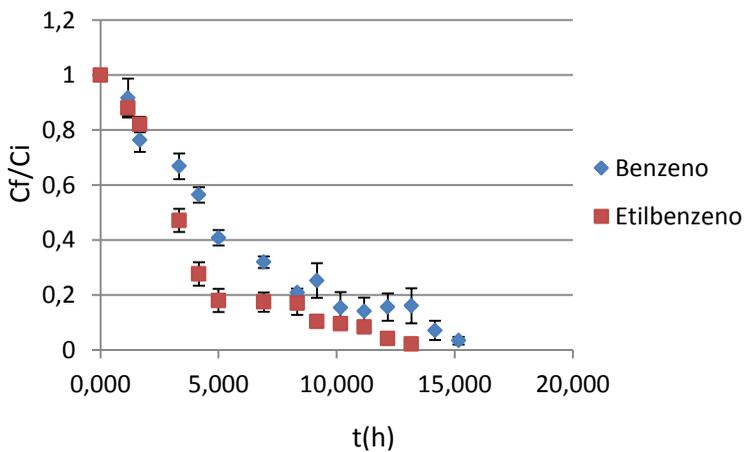
(c)

Cinética benzeno/o-xileno

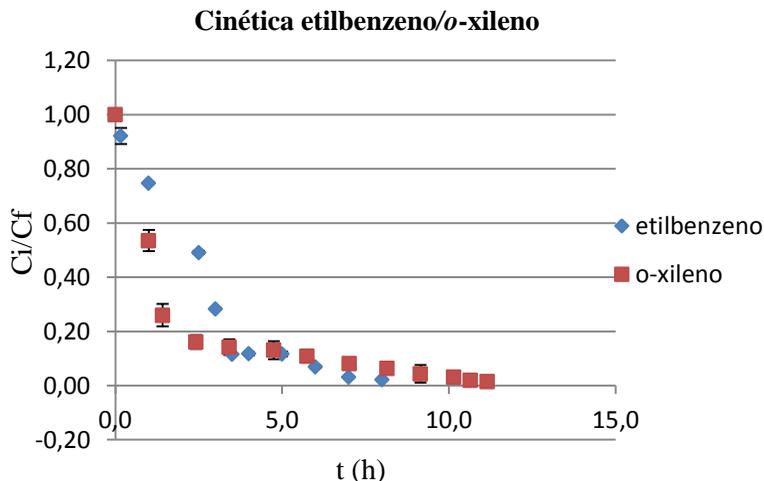


(d)

Cinética Benzeno/Etilbenzeno



(e)



(f)

Na biodegradação bicomponente dos compostos tolueno e etilbenzeno (Figura 23, a), observou-se que ambos os compostos apresentaram 100% de degradação ocorrendo em tempo menor se comparado a biodegradação desses compostos separadamente. O tolueno, quando em contato com o etilbenzeno, diminuiu o seu tempo de degradação levando 8,5 h para a sua concentração inicial chegar até zero, ou seja, duas horas e meia a menos, em comparação a biodegradação do tolueno isoladamente. O etilbenzeno também apresentou uma diminuição no seu tempo de degradação para 8 h. Já na cinética de degradação do sistema binário tolueno/benzeno (Figura 23, b), observou-se que a presença do benzeno no meio, apresentou um efeito negativo na degradação do tolueno, em relação ao processo individual, sendo necessárias 16 h para a sua completa degradação. Para o benzeno, esse tempo diminuiu para 16 h, mostrando que a interação com o tolueno favoreceu a biodegradação do benzeno.

Para o sistema *o*-xileno/ tolueno (Figura 23, c), é possível observar que houve um decréscimo no tempo de degradação tanto do tolueno, quanto do *o*-xileno, mostrando uma interação positiva desses dois compostos, quando comparado a biodegradação desses individualmente, levando 9,5 h e 11,15 h, respectivamente, para total degradação. No entanto, para o sistema binário benzeno/*o*-xileno (Figura 23, d), o contato com o composto benzeno, prejudicou o tempo de biodegradação do *o*-xileno, aumentando para 13 h, ou seja, 1,5 h a mais

em relação a biodegradação desse composto individual. Já para o benzeno, essa interação mostrou-se positiva, diminuindo o tempo de biodegradação para 16 h, em relação a esse composto individual. A interação entre o benzeno/etilbenzeno (Figura 23, e) mostrou-se favorável para esses dois compostos, pois ambos apresentaram uma diminuição do tempo de degradação, com 13,17 h para o etilbenzeno e 15,17 h para o benzeno.

Segundo Muftah *et al.*, (2014), as interações entre os substratos podem alterar as taxas de degradação de cada contaminante de forma sinérgica ou antagonicamente. As interações sinérgicas melhoram as taxas de degradação dos contaminantes por induzir o catabolismo enzimático necessário. Por outro lado, as interações antagonicas, inibem a taxa de degradação, através de outro exercendo toxicidade, repressão catabólica, inibição competitiva pela enzima ou redução de elétrons aceptores.

Hamed *et al.* (2003) estudaram a biodegradação de benzeno, tolueno e fenol como misturas binárias e terciárias. Descobriram que a presença de benzeno e fenol como co-substrato não interferiu significativamente na biodegradação de tolueno, mas tolueno e o fenol afetaram a biodegradação de benzeno negativamente.

Jo *et al.*, (2008) avaliaram o efeito antagonico e sinérgico de compostos BTEX como substrato misto e demonstraram que o aumento das concentrações de xileno na mistura mostrou um bom efeito sinérgico sobre a remoção de outros compostos. Contudo, ocorreu o oposto quando a concentração do benzeno foi aumentada. Tolueno e etilbenzeno mostraram resposta mista no padrão de remoção total BTEX.

Deeb *et al.*, (1999) em estudos realizados com consórcio enriquecido e *R. rhodochrous* avaliaram as interações de substratos causadas pela presença de vários compostos BTEX e revelaram uma série de interação do substrato. Foi relatado que as taxas de degradação do benzeno e tolueno foram ligeiramente aumentadas pela presença de *o*-xileno;

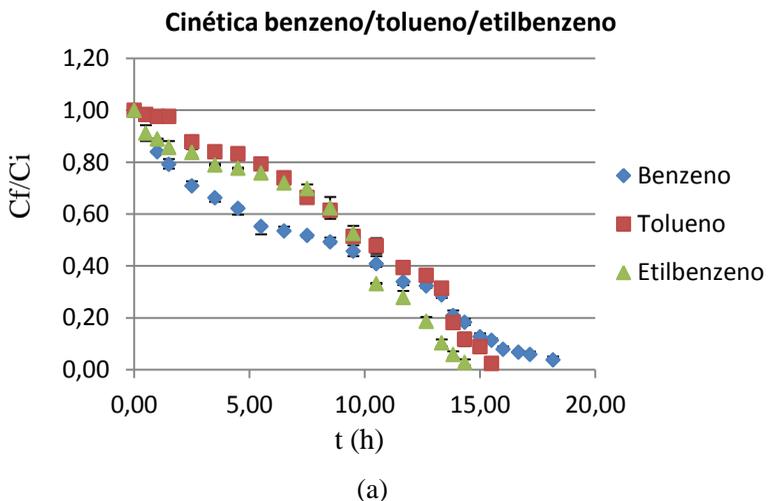
Guo *et al.*, (2012) reportaram que na mistura binária de BT, BE, BX, o tolueno e xileno, foram completamente removidos, enquanto que benzeno e etilbenzeno não foram completamente degradados. A presença de tolueno e xileno aumenta a biodegradação do benzeno, mas isso é inibido pelo etilbenzeno. A diminuição na degradação do benzeno na mistura binária BE, comparada com a degradação do B sozinho, foi atribuída ao aumento da toxicidade do benzeno na presença do etilbenzeno.

Zhang *et al.*, (2013) testaram uma nova cepa de *Mycobacterium cosmeticum* para degradar simultaneamente benzeno, tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno. Eles reportaram que esses organismos degradam eficientemente todos os compostos BTEX quando eles são adicionados individualmente ou em misturas, e mostraram preferência pelo tolueno, seguido do benzeno, etilbenzeno, e *o*-xileno. A presença dos compostos BTEX em misturas binárias ou ternárias apresentou um efeito negativo na degradação do *o*-xileno

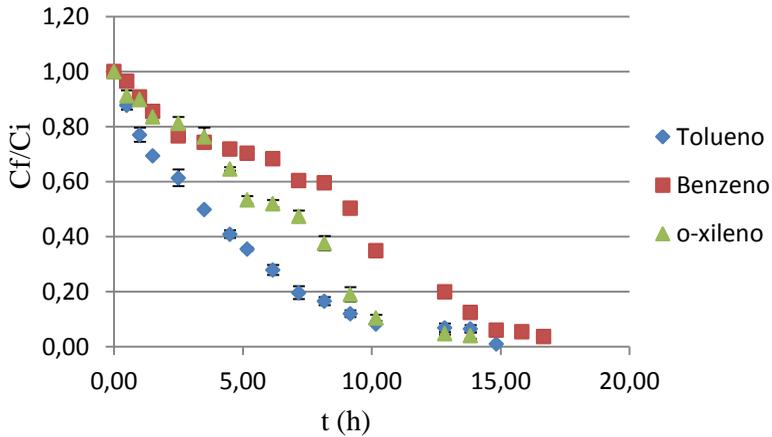
4.2.3.3 Cinéticas de biodegradação tricomponentes

As interações tricomponentes na degradação dos compostos BTEX, podem ser observados na Figura 24.

Figura 24. Cinéticas de biodegradação tricomponente ($C_0 = 60 \text{ mg/L}$)

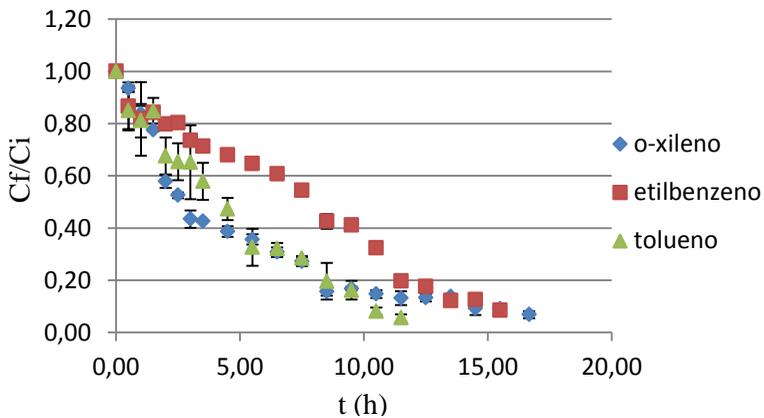


Cinética tolueno/benzeno/*o*-xileno

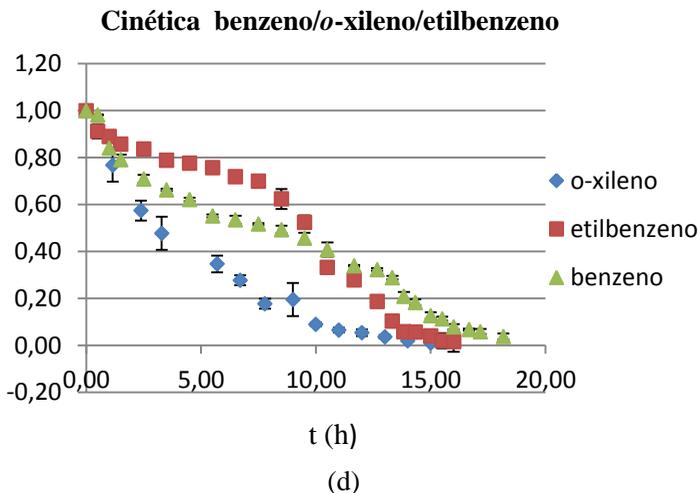


(b)

Cinética etilbenzeno/tolueno/*o*-xileno



(c)



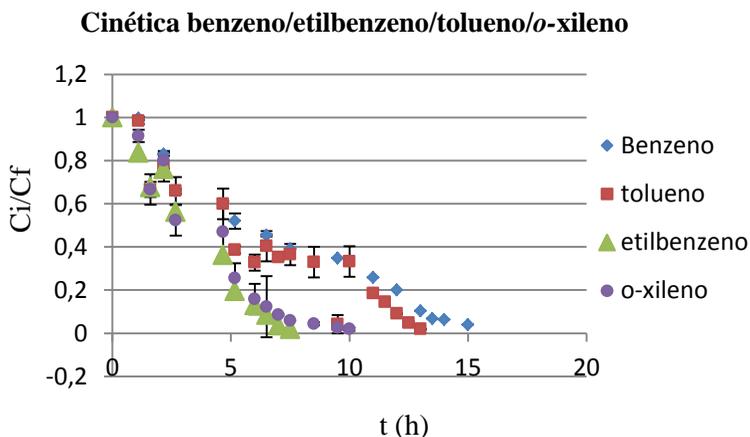
Analisando a mistura ternária benzeno/tolueno/etilbenzeno (Figura 24, a), é possível observar que o benzeno e o etilbenzeno, exercem um efeito negativo na biodegradação do tolueno, aumentando o seu tempo de biodegradação para 15,5 horas, o mesmo efeito já foi observado na mistura binária do tolueno com o benzeno (Figura 24 b), mostrando que o composto benzeno exerce um efeito negativo na biodegradação do tolueno. Resultados semelhantes obtiveram Littlejohns *et al.*, (2008), que utilizaram consórcios de bactérias para a degradação dos compostos BTEX e observaram a inibição da biodegradação do tolueno na presença do benzeno e do etilbenzeno, devido ao aumento da toxicidade do meio. Para a mistura ternária tolueno/benzeno/*o*-xileno (Figura 24, d), novamente o benzeno exerceu efeito negativo no tolueno, aumentando o seu tempo de degradação para 14,83 horas, se comparado a degradação do tolueno individualmente. Também para o *o*-xileno, houve um aumento no seu tempo, em relação ao mesmo tempo individualmente, levando 13,83 horas para a sua completa degradação. Novamente, para a mistura ternária tolueno/etilbenzeno/*o*-xileno, o tempo de degradação do *o*-xileno aumentou para 16,66 horas. Zhang *et al.*, (2013) também observaram efeito negativo do benzeno, tolueno e do etilbenzeno, na degradação do *o*-xileno, tanto nas misturas binárias, quanto nas misturas ternárias esses compostos diminuíram a degradação do *o*-xileno para 73-83% da concentração inicial desse composto.

Nas duas misturas ternárias estudadas que continham o etilbenzeno (Figura 24, a,c), foi possível observar um efeito positivo na degradação desse composto, diminuindo o tempo necessário para a sua total degradação em relação a sua degradação individual.

4.2.3.4 Cinética quadricomponente

A Figura 25 apresenta o resultado da cinética de biodegradação da mistura quaternária dos compostos BTEX.

Figura 25. Cinéticas de biodegradação tricomponente ($C_0 = 60 \text{ mg/L}$)



Analisando a biodegradação dos quatro compostos orgânicos em conjunto, observa-se que somente para o tolueno, o tempo de biodegradação aumentou, em relação a esse composto individual. Para o benzeno, etilbenzeno e *o*-xileno, o tempo para a degradação foi de 15, 7 e 9,5 h, respectivamente, enquanto para o tolueno esse tempo foi de 12,5 h.

4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

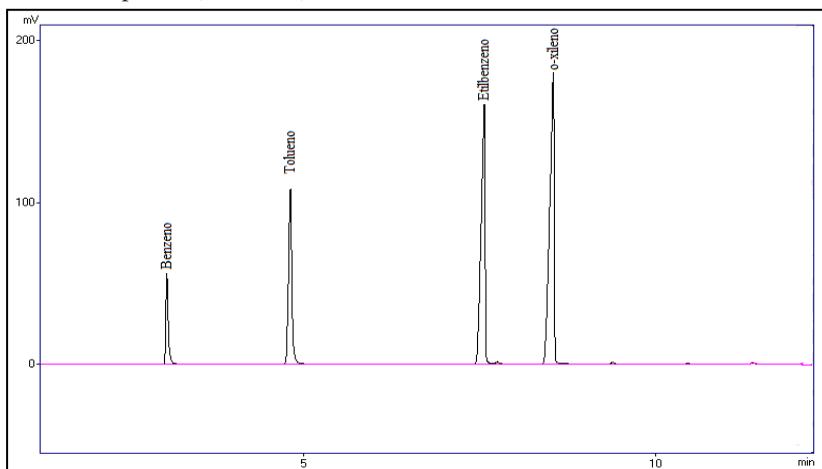
Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis sobre a amostra, ele deve sofrer uma avaliação denominada validação, que consiste em demonstrar que o método analítico é adequado para o seu propósito (BRITO *et al.*, 2003). Um processo de validação bem definido e documentado oferece às agências reguladoras, nacionais e internacionais, evidências objetivas de que os métodos e os

sistemas são adequados e de resultados confiáveis para o uso desejado (RIBANI *et al.*, 2004).

4.3.1 Seletividade

A Figura 26 mostra os cromatogramas obtidos através da injeção da matriz analisada fortificada com 1000 $\mu\text{g/L}$ de cada composto BTEX e a matriz isenta desses compostos.

Figura 26. Cromatograma obtido através da injeção da matriz analisada fortificada com os compostos BTEX 1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (linha preta) e a matriz isenta desses compostos (linha lilás).

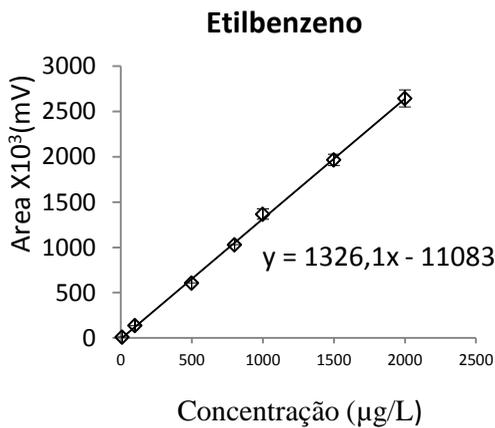


Comparando-se o cromatograma do teste em branco com a da amostra fortificada de 1000 $\mu\text{g/L}$ de BTEX, na Figura 26, não se observou nenhum interferente eluindo no tempo de retenção dos compostos de trabalho, mostrando que o método possui uma boa seletividade para análises dos compostos BTEX utilizando água destilada e o xisto retornado como matriz com boa resolução dos picos.

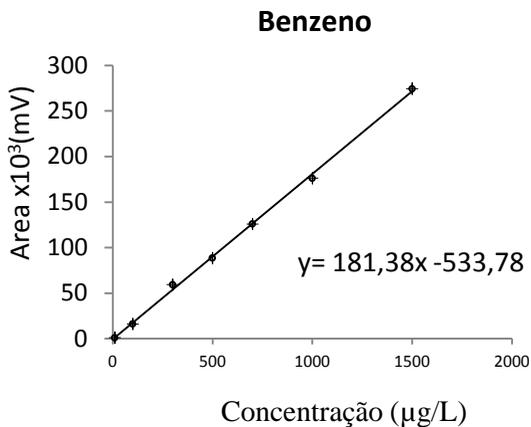
4.3.2 Linearidade

A linearidade do método foi avaliada através da construção de curvas analíticas dos quatro compostos em estudo e estão representadas na Figura 27.

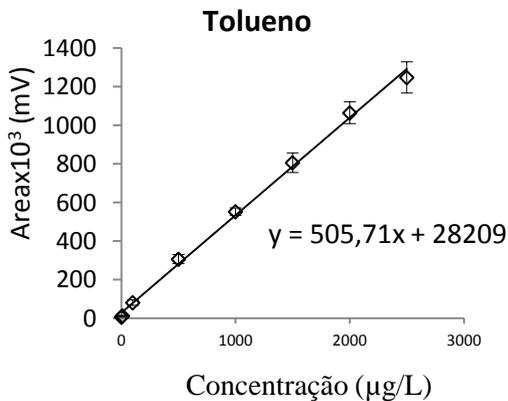
Figura 27. Curvas analíticas obtidas para os compostos a) etilbenzeno, b) tolueno, c) benzeno e d) *o*-xileno.



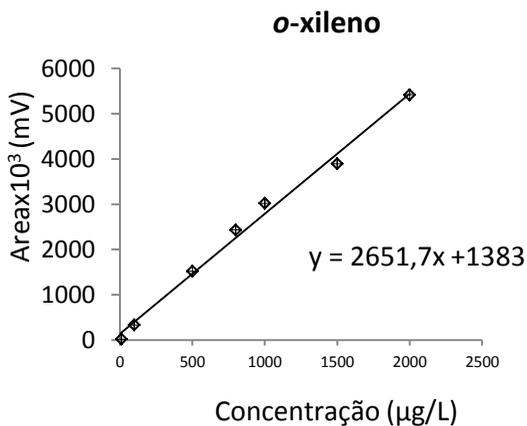
(a)



(b)



(c)



(d)

Para todos os compostos em estudo, foi construída uma curva com concentrações na faixa de 3 µg/L a 3000 µg/L. No entanto a linearidade não foi observada para toda a faixa de concentração testada. A Tabela 38 mostra a faixa linear obtida para o benzeno, tolueno, *o*-xileno e o etilbenzeno.

Tabela 34. Faixa de linearidade obtida para os compostos BTEX.

| Composto | Faixa linear ($\mu\text{g/L}$) |
|-----------------|--|
| Tolueno | 10 – 2500 |
| Etilbenzeno | 10-2000 |
| o-xileno | 10-2000 |
| Benzeno | 10-1500 |

Todas as curvas analíticas construídas apresentaram um bom coeficiente de determinação para a faixa de concentração linear obtida através do método utilizado para análise dos compostos BTEX, com valor de R^2 entre 0,997 e 0,999. Segundo Lanças (2004) coeficientes de determinação acima de 0,98 são considerados satisfatórios para métodos cromatográficos de análise. A ANVISA (2003) recomenda um coeficiente de correlação igual a 0,99 e o INMETRO (2003) valores acima de 0,90 são requeridos. Assim, os valores de coeficiente de determinação (R^2) e correlação comprovam que as quatro curvas são lineares no intervalo obtido.

4.3.3 Exatidão

A exatidão do método foi obtida através dos ensaios de recuperação de três níveis de concentração (300, 800 e 2000 $\mu\text{g/L}$ para o tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno e 300, 800 e 1500 $\mu\text{g/L}$ para o benzeno) com a triplicata de cada nível. As recuperações médias obtidas para o benzeno, tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno, estão apresentadas na Tabela 39.

Tabela 35. Valores de exatidão encontrados para os compostos BTEX.

| Composto | Recuperação (%) |
|------------------|------------------------|
| Benzeno | 100,10 |
| Etilbenzeno | 98,09 |
| Tolueno | 100,42 |
| <i>o</i> -xileno | 95,70 |

Analisando a Tabela 39 observou-se que os valores de recuperação obtidos para todos os compostos BTEX enquadraram-se na faixa aceitável para análises cromatográficas. Segundo Ribani *et al.* (2004), intervalos aceitáveis de recuperação para análises de resíduos estão geralmente entre 70 e 120 %, com precisão de até ± 20 %, porém

dependendo da complexidade analítica da amostra, este valor pode ser de 50 a 120 %, com precisão de até ± 15 %.

4.4.4 Precisão

A precisão do método foi estudada através de ensaios de repetitividade com nove determinações dentro do intervalo de três diferentes concentrações (300, 800 e 2000 $\mu\text{g/L}$ para o tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno e 300, 800 e 1500 $\mu\text{g/L}$ para o benzeno) e três replicatas. Os coeficientes médios de variação para avaliação da precisão do método de análise dos compostos BTEX estão apresentados na Tabela 40.

Tabela 36. Coeficientes médios de variação obtidos para obtenção da precisão do método utilizado para análise dos compostos BTEX.

| Composto | Coefficiente de variação (%) |
|------------------|------------------------------|
| Benzeno | 1,28 |
| Tolueno | 3,45 |
| Etilbenzeno | 3,06 |
| <i>o</i> -xileno | 2,28 |

Como pode ser observado na Tabela 40, todos os compostos em estudo apresentaram uma ótima precisão apresentando coeficiente de variação com valores abaixo de 5 %.

4.3.5 Limite de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do equipamento e do método para cada composto analisado estão apresentados na Tabela 41.

Tabela 37. Limites de detecção e quantificação para análise dos compostos BTEX.

| Composto | LD ($\mu\text{g/L}$) | LQ ($\mu\text{g/L}$) |
|------------------|------------------------|------------------------|
| Benzeno | 6,51 | 19,74 |
| Tolueno | 16,58 | 50,26 |
| Etilbenzeno | 8,01 | 24,28 |
| <i>o</i> -xileno | 6,94 | 21,05 |

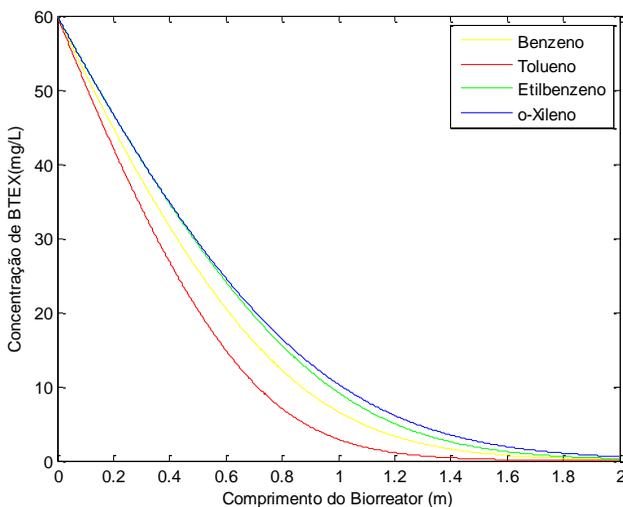
Os limites de detecção e quantificação observados na Tabela 41 apresentaram-se adequados aos objetivos do estudo de adsorção dos BTEX, pois se encontram dentro da faixa de concentração requerida para análise desses compostos. Considerando a concentração da solução inicial de contaminantes que será utilizada no trabalho, da ordem de 56 ppm, no caso do tolueno, para atingir o limite de quantificação a remoção deste pelo adsorvente deverá ser superior a 99,9 %.

4.4 SIMULAÇÃO DOS EXPERIMENTOS EM COLUNA

Através do algoritmo numérico desenvolvido é possível simular o processo de biodegradação dos compostos orgânicos presentes em efluentes petroquímicos, em uma coluna de leito fixo. Tal simulação se dá através da formulação matemática baseada no trabalho de Mello *et al.*, (2010), no qual é apresentado um modelo de uma única equação que descreve o perfil de concentração do substrato em um biorreator de leito fixo.

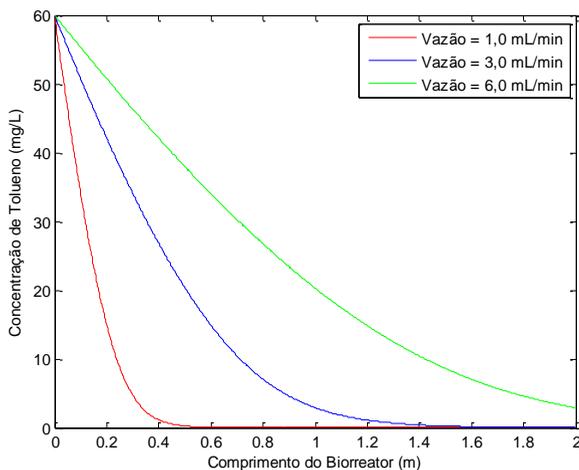
A Figura 28 ilustra o perfil de concentração do benzeno, tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno, em função do comprimento do biorreator, que é de 2 m. A concentração inicial dos compostos BTEX simulada é de 60 mg/L com vazão de 3 mL/s.

Figura 28. Perfil de Concentração dos compostos BTEX para concentração inicial de 60 mg/L e vazão de alimentação de 3 mL/s.

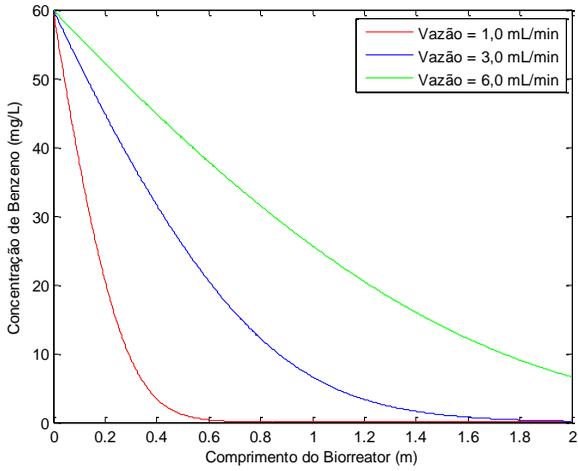


Como é possível analisar na Figura 28, para a concentração inicial e vazão estipuladas, apenas o tolueno apresentou uma completa degradação, com um biorreator de 2 m. Essa total degradação do tolueno já é possível de observar na posição de 1,6 m do biorreator. Para benzeno, etilbenzeno e *o*-xileno, a vazão testada mostrou-se muito alta para a total degradação desses compostos, ou o biorreator com comprimento pequeno. Em virtude desses resultados, optou-se por simular para os quatro compostos estudados, três vazões diferentes: 1,0 mL/min, 3,0 mL/min e 6,0 mL/min, com o mesmo comprimento do biorreator já testado (2,0 m). Os resultados podem ser avaliados na Figura 29.

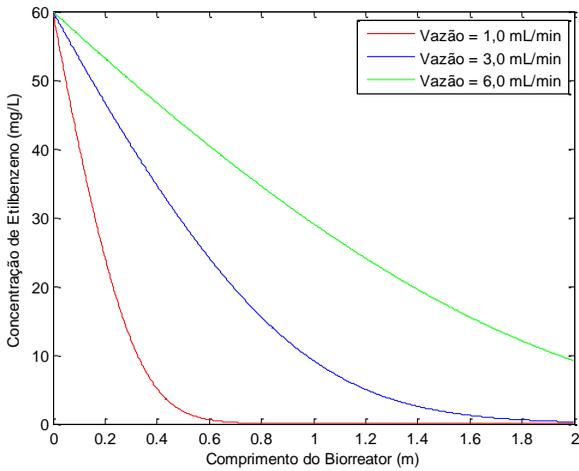
Figura 29. Perfil de Concentração do (a) tolueno (b) benzeno (c) etilbenzeno (d) *o*-xileno ao longo do reator para diferentes vazões e uma concentração inicial de 60 mg/L.



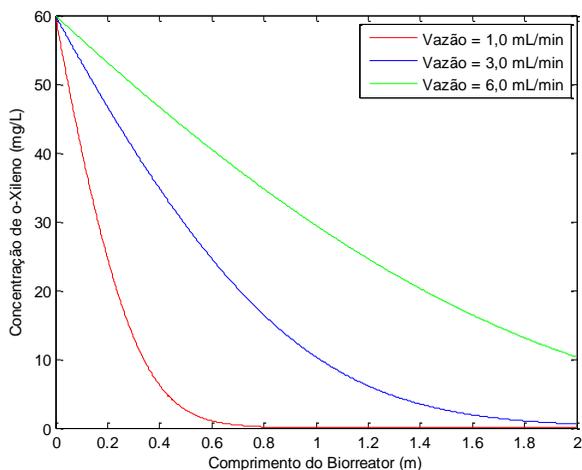
(a)



(b)



(c)



(d)

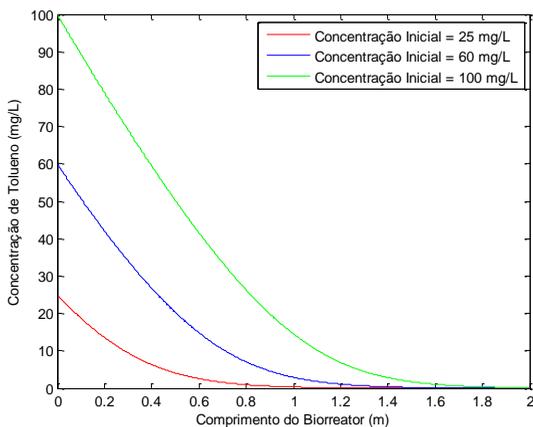
Através da análise da Figura 29, é possível observar que para as vazões estipuladas, apenas para o valor de 1,0 mL/min, todos os quatro compostos serão totalmente biodegradados. Também é possível observar que essa biodegradação acontece na posição de menos de 1 m do biorreator, não necessitando do comprimento de 2 m.

Para a vazão de 3 mL/min, observa-se que não acontece a biodegradação total dos BTEX, pois os compostos ainda apresentam uma concentração de saída do reator, de 155, 17, 551 e 278 $\mu\text{g/L}$ para o benzeno, tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno, respectivamente, valores esses, que excedem o limite permitido pelo CONAMA para descarte de efluentes em corpos de água, que é de 5, 2, 90 e 300 $\mu\text{g/L}$ para os BTEX, respectivamente (CONAMA, 2005).

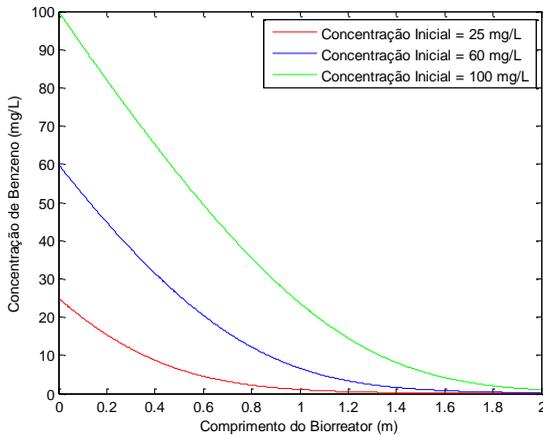
Verifica-se também que para uma maior vazão, 6 mL/s, é necessário um biorreator de maior comprimento, pois um biorreator de 2,0 metros é insuficiente para a completa degradação dos quatro compostos orgânicos, apresentando ainda uma concentração bem alta na saída do biorreator, em relação a concentração permitida pelo órgão ambiental.

A Figura 30 ilustra o perfil de concentração dos compostos BTEX em função do comprimento da coluna, utilizando diferentes concentrações de entrada do efluente.

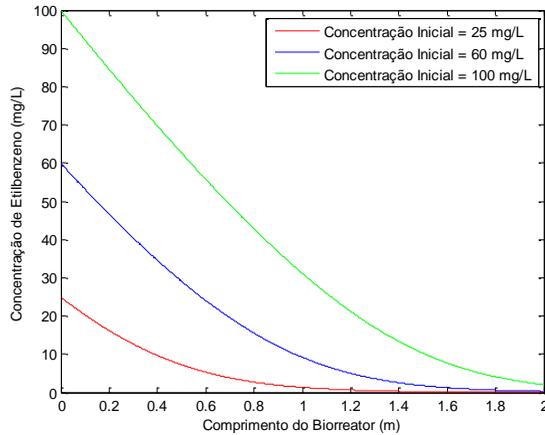
Figura 30. Perfil de Concentração do (a) tolueno (b) benzeno (c) etilbenzeno (d) *o*-xileno ao longo do reator para diferentes concentrações e vazão de entrada de 3mL/min.



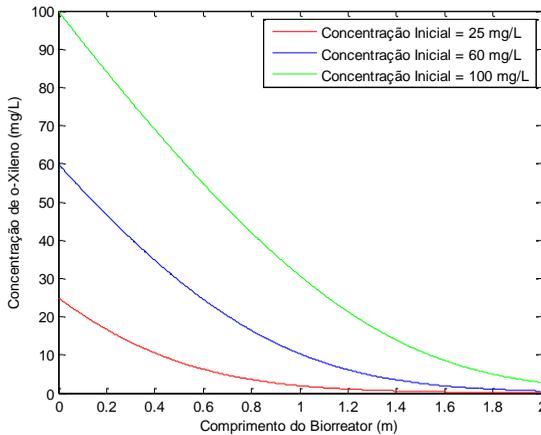
(a)



(b)



(c)



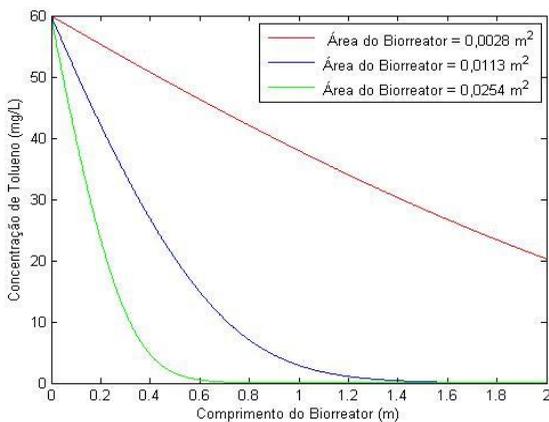
(d)

Variando-se a concentração de entrada de cada composto orgânico, é possível observar que para a concentração de 25 mg/L, todos os compostos BTEX são totalmente degradados ao longo do biorreator. Enquanto que para a concentração inicial de 100 mg/L, todos os compostos estudados, ainda apresentam concentrações acima do limite permitido pelo CONAMA, sendo necessário um biorreator de

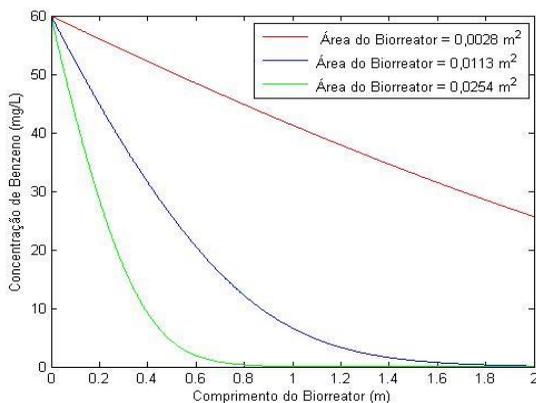
comprimento maior, ou de maior área, para a completa biodegradação dos BTEX.

A Figura 31 ilustra o perfil de concentração dos compostos BTEX em função do comprimento da coluna, utilizando diferentes áreas do biorreator.

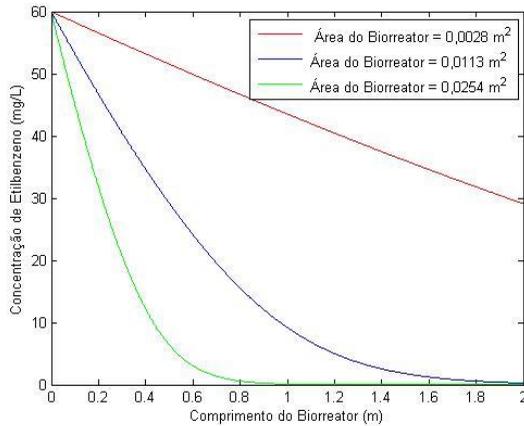
Figura 31. Perfil de Concentração do (a) tolueno (b) benzeno (c) etilbenzeno (d) *o*-xileno ao longo do reator para diferentes concentrações e vazão de entrada de 3mL/min.



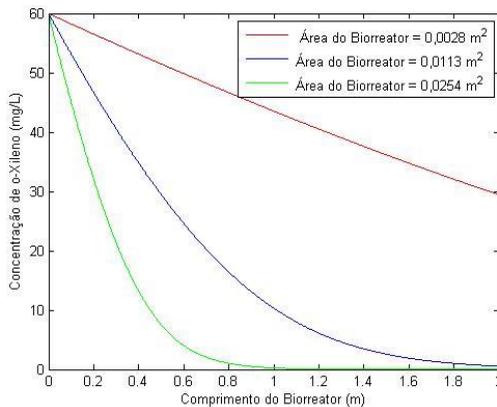
(a)



(b)



(c)



(d)

Como pode ser observado na Figura 31 a área do biorreator é inversamente proporcional à velocidade de biodegradação no reator. Ou seja, quanto maior a área, mais rápida será a biodegradação, para uma área pequena de $0,0028 \text{ m}^2$, não há a degradação completa de nenhum dos compostos estudados; no entanto, para a maior área testada, $0,0254 \text{ m}^2$, todos os compostos orgânicos estudados são biodegradados em um comprimento menor que 1 m de biorreator.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho estudou-se a adsorção e biodegradação de compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno e *o*-xileno, utilizando o xisto como adsorvente e suporte para imobilização do biofilme. Através dos resultados apresentados, foi possível observar que o xisto apresentou uma baixa eficiência quando utilizado como adsorvente para os compostos BTEX, se comparado a outros adsorventes já estudados para este fim. No entanto, como suporte para biofilme, esse argilomineral mostrou-se eficaz, pois a biomassa imobilizada nesse suporte foi capaz de degradar todos os compostos BTEX individualmente e em mistura.

A metodologia analítica utilizada para análise dos compostos BTEX utilizando microextração em fase sólida garantiu o desempenho necessário para esse tipo de análise, através dos parâmetros validados que foram a seletividade, linearidade, exatidão, precisão, limite de detecção e quantificação.

Os ensaios preliminares de adsorção mostraram as melhores condições para maximizar a adsorção dos compostos BTEX pelo xisto retornado. Essas condições foram: granulometria de 1,00 -1,40 mm, pH = 6,0 e massa de adsorvente = 1,0g.

Para os diferentes tratamentos testados, a fim de aumentar a capacidade de adsorção do xisto, verificou-se que o único que apresentou resultado satisfatório foi o tratamento com diferentes ácidos. Dentre os ácidos testados foi possível observar que a ativação do xisto retornado com os ácidos mais fracos testados (H_3COOH e H_3PO_4) apresentou uma maior eficiência na adsorção do tolueno pelo adsorvente tratado.

Os testes cinéticos mostram que cada composto orgânico estudado apresentou um tempo de equilíbrio de adsorção diferente, na seguinte ordem: B>X>T>E, com tempos aproximados de 27, 20,15 e 10 h, respectivamente.

O modelo cinético que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o de pseudo-primeira ordem, apresentando coeficientes de correlação entre 0,90 – 0,98 para os quatro compostos. Analisando as constantes de velocidade de adsorção K_1 , do modelo cinético, foi observada uma diminuição na ordem de T>B>X>E, que segundo autores, as maiores taxas obtidas para o tolueno e para o benzeno podem ser atribuídas à massa molar dos compostos BTEX, pois devido à menor massa molar do benzeno e do tolueno, essas moléculas

podem penetrar melhor para o interior dos sítios ativos de adsorção, em relação ao *o*-xileno e etilbenzeno.

A caracterização do adsorvente estudado revelou uma área específica baixa, em relação a outros adsorventes estudados na adsorção dos BTEX, no entanto, não diferente de outras amostras de xisto utilizadas na adsorção de outros compostos. As imagens de microscopia eletrônica revelaram uma estrutura com placas lamelares características dos argilominerais. O espectro de absorção na região do infravermelho apresentou bandas características de moléculas de água, material orgânico, carboxilatos e bandas características de argilo minerais e quartzo presentes na amostra.

A capacidade máxima de adsorção do xisto retornado foi determinada através do ajuste dos dados experimentais ao modelo de Langmuir. Os valores dos coeficientes de correlação obtidos entre 0,98 – 0,99 mostraram um ótimo ajuste dos dados experimentais a esse modelo. A capacidade máxima de adsorção decresce na seguinte ordem: T > B > E > X. Autores atribuem a seletividade encontrada para a adsorção desses compostos à natureza química da superfície do adsorvente, mais especificamente aos grupos carboxílicos presentes. Uma vez que a variação do pH não é significativa durante a adsorção, a relação entre a adsorção desses compostos e os grupos carboxílicos é observada.

As cinéticas monocomponentes de biodegradação dos compostos BTEX com biofilme suportado no xisto mostraram que todos os compostos foram degradados totalmente. A ordem crescente para o tempo de biodegradação de cada composto estudado foi *o*-xileno < tolueno < benzeno < etilbenzeno com tempos variando entre 11 e 25 h. Na cinética de biodegradação bicomponente etilbenzeno/tolueno e *o*-xileno/tolueno, foi observada uma interação entre esses compostos que foi capaz de diminuir o tempo de degradação de ambos, em relação ao tempo de cada um individualmente. Já para o sistema tolueno/benzeno e benzeno/*o*-xileno houve uma interação negativa, pois o contato tanto do tolueno quanto do *o*-xileno com o benzeno, aumentou o tempo de biodegradação desses compostos em relação aos experimentos individuais, mostrando que o benzeno apresentou um efeito negativo na degradação desses compostos, no entanto, estes favoreceram a degradação do benzeno, diminuindo o seu tempo de biodegradação. A interação entre o benzeno/etilbenzeno mostrou-se favorável para esses dois compostos, pois ambos apresentaram uma diminuição do tempo de degradação. Para as cinéticas tricomentes realizadas, foi observado que para a mistura ternária benzeno/tolueno/etilbenzeno, o benzeno e o etilbenzeno exerceram um

efeito negativo na biodegradação do tolueno, aumentando o seu tempo de biodegradação. Para a mistura ternária tolueno/benzeno/*o*-xileno, houve um aumento no tempo de biodegradação do tolueno e do *o*-xileno, e para o sistema tolueno/etilbenzeno/*o*-xileno, também foi observado um aumento no tempo de degradação do *o*-xileno. E finalmente para a cinética quadricomponente, foi observado somente efeito negativo para o tolueno, que aumentou o seu tempo de biodegradação.

A identificação dos micro-organismos presentes na amostra antes e após a adaptação (amostra 1 e 2, respectivamente) dos mesmos aos compostos BTEX mostrou gêneros de bactérias predominantes diferentes para as duas amostras, sendo que na amostra 1 foram identificados os gêneros *Clostridium* e *Pseudomonas* e na amostra 2, o gênero *Comamonas*. Quanto às espécies, foram identificadas ao todo nas duas amostras 593, sendo que dentro do gênero *Comamonas*, que foi o gênero em maior quantidade na amostra adaptada aos BTEX, a espécie em maior abundância foi a *Comamonas testosteroni*.

A simulação do processo de biodegradação dos compostos BTEX em coluna, utilizando o xisto como suporte para o biofilme, foi estudada variando-se diferentes parâmetros como: vazão de entrada, concentração inicial e área do biorreator. Conclui-se que as melhores condições de operação para esse biorreator foram a vazão de entrada do efluente de 1,0 mL/min, pois para as outras vazões testadas não ocorreu a degradação total dos compostos BTEX, até o final do biorreator. A concentração ideal dos compostos BTEX para as condições simuladas foi de 25 mg/L, pois para as outras duas concentrações iniciais estudadas, 60 mg/L e 100 mg/L, pelo menos um dos compostos não foi totalmente biodegradado até o final do biorreator. Observou-se que a área do biorreator é inversamente proporcional à velocidade de biodegradação no reator, ou seja, quanto maior a área, mais rápida será a biodegradação. Portanto, dentre as três áreas simuladas para o biorreator, houve a biodegradação dos compostos BTEX, em menos da metade do biorreator, para a maior área testada.

6 REFERÊNCIAS

ABDULLAHA, M.A. CHIANGB, L. NADEEMA, M. Comparative evaluation of adsorption kinetics and isotherms of a natural product removal by Amberlite polymeric adsorbents. **Chemical Engineering Journal**. V. 146 p.370–376, 2009.

AL-ASHEH, S.; BANAT, F.; MASAD, A. Physical and chemical activation of pyrolyzed oil shale residue for the adsorption of phenol from aqueous solutions. **Environmental geology**, v. 44, n. 3, p. 333-342, 2003.

AL-DURI, B., McKAY, G. Pore Diffusion: Dependence of the Effective Diffusivity on the Initial Sorbate Concentration in Single and Multisolute Batch Adsorption Systems, **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, Vol. 55, p. 245-250, 1992.

ALEGHAFOURI A, B, A. HASANZADEH C ,N. MAHDYARFAR A ,M. SEIFKORDI CA., MAHDAVI A ,S.M ALI TAGHI ZOGHI A. Experimental and theoretical study on BTEX removal from aqueous solution of diethanolamine using activated carbon adsorption. **Journal of Natural Gas Science and Engineering**. v.22, p. 618 e 624, 2015.

AIVALIOTI, M. VAMVASAKIS, GIDARAKOS, E. BTEX and MTBE adsorption onto raw and thermally modified diatomite. **Journal of Hazardous Materials** v. 178 p. 136–143, 2010.

AIVALIOTI, M. POTHOUAKI, D. PAPOULIAS, P GIDARAKOS, E. Removal of BTEX, MTBE and TAME from aqueous solutions by adsorption onto raw and thermally treated lignite. **Journal of Hazardous Materials**. v. 207-208, p.136-146, 2012.

ALVA-ARGÁEZ, A.; KOKOSSIS, A.C.; SMITH, R. The design of water using systems in petroleum refining using a water-pinch decomposition. **Chemical Engineering Journal**, v.128, p. 33-46, 2007.

ANP, site: <http://www.anp.gov.br/>. Data: 20/12/2012.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária; *Resolução RE nº 899*, de 29/05/2003.

ARAMBARRI, I.; LASA, M.; GARCIA, R.; MILLAN, E.
Determination of fuel dialkyl ethers and BTEX in water using *headspace* solid-phase microextraction and gas chromatography-flame ionization detection. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1033, n.2, p.193-203, Apr. 2004.

AYAR,N BILGIN, ATUN,G. Kinetics and equilibrium studies of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid adsorption on bituminous shale. **Chemical Engineering Journal**. v.138 p.239–248, 2008.

BERTELLA, F., SCHWANKE, A. J., WITTEE LOPES, C. W., PENHA, F. G. Estudo da ativação ácida de uma argila bentonítica. **Perspectiva**, v.34, n.127, p. 105-111,2010.

BORBA, C.E. Modelagem da remoção de metais pesados em coluna de adsorção de leito fixo. **Dissertação**, Unicamp- Campinas, 2006.

BORBA, C.E., GUIRARDELLO, R., SILVA, E.A., VEIT, M.T. e TAVARES. C.R.G. Removal of Nickel (II) Ions from Aqueous Solution by Biosorption in a Fixed Bed Column: Experimental and Theoretical Breakthrough Curves, **Biochemical Engineering Journal**, p.184-191, 2006.

BOTALOVA,O. SCHWARZBAUER,J. FRAUENRATH,T. DSIKOWITZKY ,L.
Identification and chemical characterization of specific organic constituents of petrochemical effluents. **Water Research** v.43 p.3797 – 3812 2009.

BRANDÃO, H.L. **Transferência de massa no processo de biodegradação de efluentes líquidos em reatores com biofilme**. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

BRITO, N, M.; AMARANTE, O. P. J.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas:**

Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, Curitiba, v. 13, p.129-146, 2003.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P.H.; TELLER, E. Adsorption of gases in Multimolecular Layers. **Journal of the American Chemical Society**, v.60, p.309-319, 1938.

CAMPOS, A.C e LEONTSINIS, E. **Petróleo e derivados**. Editora Técnica Ltda, 1989.

CARRERA, A.M.M. VARAJÃO, A.F.D.C. GONÇALVES, M.A ANTÔNIA S. STACCHINI, A.S. Argilas bentoníticas da península de santa Helena, equador: pilarização, ativação ácida e seu uso como descolorante de óleo de soja. **Química Nova** v. 32, n. 9 p.2287-2293, 2009.

CARVALHO, M.N. M. MOTTA, M., BENACHOUR, M., SALES, D.C.S., ABREU, C.A.M. Evaluation of BTEX and phenol removal from aqueous solution by multi-solute adsorption onto smectite organoclay. **Journal of Hazardous Materials**. V. 239–240 p. 95–101, 2012.

CASTILLA, C.M. Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials. **Carbon**. p.83-84, 2004.

CHÁVEZ, J.A.M. MARTÍNEZ, J.A.A. ESTILLA, A.M.R. VELÁZQUEZ-VADILLO, V.F.J. WILLIAM E. HASKINS, W.ESALDAÑA, H.A.B. ASKAR, K.A.A. Kinetics of BTEX biodegradation by a microbial consortium acclimatized to unleaded gasoline and bacterial strains isolated from it. International. **Biodegradation & Biodegradation**, v.64 p.581e 587, 2010.

CHEN, S., YUE, Q., GAO, B., LI, Q., XU, X., FU, X.X. Adsorption of hexavalent chromium from aqueous solution by modified corn stalk: A fixed-bed column study. **Bioresource Technology** .v.113 (2012) p.114–120, 2012.

CHIANG, Y., WU, P. Adsorption equilibrium of sulfur hexafluoride on multi-walled carbon nanotubes. **Journal of Hazardous Materials**. v.178 p.729–738, 2010.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE.
Resoluções do CONAMA, n.357, de 17/03/2005, Brasília, 2005

CORRÊA, O.L. **Petróleo: noções sobre exploração, perfuração, produção e microbiologia**. Editora Interciência, 2003.

COSTA, A.S; ROMÃO, L.P.C., ARAÚJO, B,S S.C.O., LUCAS,S.C.O., MACIEL, S.T.A., WISNIEWSKI JR. A., ALEXANDRE, M.R. Environmental strategies to remove volatile aromatic fractions (BTEX) from petroleum industry wastewater using biomass. **Bioresource Technology** v.105 p. 31–39, 2012.

DEEB, L. ALVAREZ-COHEN, Temperature effects and substrate interactions during the aerobic biotransformation of BTEX mixtures by toluene-enriched consortia and *Rhodococcus rhodochrous*, **Biotechnology and Bioengineering**. v. 62, p.526–36, 1999.

DEZOTTI, M. JR,G.L.S.JR, BASSIN,J.P. Processos biológicos avançados. Para tratamento de efluentes e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana. Editora: Interciência. Rio de janeiro, 2011.

DURAL, M.U. CAVASA, L., PAPAGEORGIOUC, S.K. KATSAROSC, F.K, Methylene blue adsorption on activated carbon prepared from *Posidonia oceanica* (L.) dead leaves: Kinetics and equilibrium studies. **Chemical Engineering Journal**, 2010.

EL-NAAS, M.H, ACIO, J. EL TELIB, A.T. Aerobic biodegradation of BTEX: Progresses and Prospects. **Journal of Environmental Chemical Engineering** v.2 (2014) p.1104–1122, 2014.

EZQUERRO, O; TENA, M.; ORTIZ, G.; PONS, B. Determination of BTEX in soils by multiple *headspace* solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography**, v.1035, n.1, p.17-22, 2004.

FAISAL, R.C.M.A.F.I.N e ILLIAS, G.S.F.Z.M.F.R.M. Effects of the immobilization of recombinant *Escherichia coli* on cyclodextrin glucanotransferase (CGTase) excretion and cell viability. **Biochemical Engineering Journal**, 2015.

FAN,C., YAN,J; HUANG,Y; HAN,X; JIANG,X. XRD and TG-FTIR study of the effect of mineral matrix on the pyrolysis and combustion of organic matter in shale char. **Fuel** v.139 p.502–510, 2015.

FAN, L.-S.; LEYVA-RAMOS, R.; WISECARVER, K.D.; AND ZEHNER, B.J. Diffusion of phenol through a biofilm grown on activated carbon particles in a draft-tube three-phase fluidized bed bioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v.35, n.3, p.279–286, 1990.

FONSECA, M. C., CUNHA,T. P., FONSECA, M.V.A., SANTOS, P.S.S. Estudos comparativos preliminares de caracterização química e mineralógica de amostras de xisto original e pirolisado do Processo Petrosix. **Cerâmica**. v.30, p.174, 1984.

FOLETTTO, E.L. VOLZONE, C., MORGADO, A.F., PORTO, L.M. Influência do tipo de ácido usado e da sua concentração na ativação de uma argila bentonítica. **Cerâmica** v.47 p.304, 2001.

GAROMA, T. E., SKIDMORE, L., Modeling the influence of ethanol on the adsorption and desorption of selected BTEX compounds on bentonite and kaolin. **Journal of Environmental Sciences**, v.23 p.1865–1872, 2011.

GITIPOUR,S., BOWER S, M. HUFFT, W. BODOCSI. THE efficiency of modified bento nite clays for removal of aromatic organics from oily liquid wastes. **Research**, 1998.

GUO H; YAO, J; HUILUN CHEN ,H; JINGWEI WANG ,J; MASAKORALA,K; JIN,Y;. RICHNOW, H.H RUTH E. BLAKE, R. Substrate interactions during biodegradation of benzene/alkylbenzene mixtures by Rhodococcus sp. ustb-1. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.75, p. 124-130, 2012.

HAMED, A.T; BAYRAKTAR, E; MEHMETOG˘LU, T; U˘ LKU˘ MEHMETOG˘LU. Substrate interactions during the biodegradation of benzene, toluene and phenol mixtures. **Process Biochemistry**. v.39 p.27-35, (2003).

HELENO, F. LIMA, A.C. AFONSO, R.J.C. E. COUTRIM, M.X. Otimização e validação de métodos analíticos para determinação de

BTEX em água utilizando extração por *headspace* e microextração em fase sólida. **Química Nova**, v. 33, n.2, 329-336, 2010.

HOSSEINI-BANDEGHARAEIA, A. HOSSEINIB, M.S. MASOUD SARW-GHADIA, M. HOSSEINIA, S.Z.E HOSSEINI-BANDEGHARAEIA, H. Kinetics, equilibrium and thermodynamic study of Cr(VI) sorption into toluidine blue o impregnated XAD-7 resin beads and its application for the treatment of wastewaters containing Cr(VI). **Chemical Engineering Journal** v.160 p.190–198, 2010.

HUANG, C.-H.; CHANG, K.-P.; OU, H.-D.; CHIANG, Y.-C.; WANG, C.-F. Adsorption of cationic dyes onto mesoporous silica. **microporous and mesoporous materials**, v. 141, n. 1–3, p. 102-109, 2011.

INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; *Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos*, DOQ-CGCRE-008, 2003.

IUPAC. **Manual of symbols and terminology for physicochemical quantities and units**. Washington: 2006.

PAVEL JANDERA, P. KOMERS,D. LUKA´S,~ ANDE`L,D´IR PROKES,L Fitting competitive adsorption isotherms to the distribution data in normal phase systems with binary mobile phases. **Journal of Chromatography A**, v.831, p.131–148, 1999.

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

JORGE, F.A.S. Estudo da adsorção do gossipol existente em óleo de semente de algodão. **Dissertação**, Fortaleza, 2006.

JUNIOR, G.L.S. **Tratamento Biológico de Efluentes – Fundamentos e Aplicações**. Editora: Interciência. Rio de Janeiro, 2013.

KHAN, R.F. WANG, W.W. CAO, D.R. DOERGE, D. WENNERSTROM, C.E. CERNIGLIA. Molecular cloning, nucleotide sequence, and expression of genes encoding a polycyclic aromatic ring

dioxygenase from *Mycobacterium* sp. strain PYR-1. **Applied and Environmental Microbiology**. v.67, p. 3577–85, 2001.

KHRAISHEH, M.A.M., AL-DEGS, Y.S., MCMINN, W.A.M.. Remediation of wastewater, containing heavy metals using raw and modified diatomite. **Chemical Engineering Journal**. v.99, p.177–184, 2004.

KROL, A. BELL, A.P.R.F. GREENFIELD, P. F and DUNSTAN, M. J. Ion exchange properties of retorted rundle oil shale. **Water. Research**. v. 20, n. 10, p.1299-1306, 1986.

LANÇAS, F.M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. São Paulo: Rima, 2004.

LASMAR, M.C., LEITE, E.M.A Desenvolvimento e validação de um método cromatográfico em fase gasosa para análise da 3,4-metilenodioximetanfetamina (*ecstasy*) e outros derivados anfetamínicos em comprimidos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 43, n. 2, 2007.

LI, Q. YUEA, Q-Y .SUC, Y .GAOA, B.SUNB, H. Equilibrium, thermodynamics and process design to minimize adsorbent amount for the adsorption of acid dyes onto cationic polymer-loaded bentonite. **Chemical Engineering Journal** v.158 p. 489–497, 2010.

LIM, B.G., CHING, C.B., TAN, R.B.H. Determination of competitive adsorption isotherms of enantiomers on a dual-site adsorbent. **Separations Technology** v.5, p. 213-228, 1995.

LITTLEJOHNS, J.V., DAUGULIS, A.J. Kinetics and interactions of BTEX compounds during degradation by a bacterial consortium. **Process Biochemistry**. v. 43, p. 1068–1076, 2008

LIU, Y. Some consideration on the Langmuir isotherm equation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 274 p.34–36, 2006.

LU, C. SU, F. HU, S. Surface modification of carbon nanotubes for enhancing BTEX adsorption from aqueous solutions. **Applied Surface Science**, v.254 p. 7035–7041, 2008.

LUZ, A.D. Aplicação de processos adsorptivos na remoção de compostos BTX presentes em efluentes petroquímicos. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2009.

MAGOT, M.; OLLIVIER, B.; PATEL, B. K.C. Microbiology of petroleum reservoirs. **Antonie van Leeuwenhoek**, Reino dos Países Baixos: Kluwer Academic, v.77, p.103-116, fevereiro 2000.

MALHERBE, R.R. Complementary approach to the volume filling theory of adsorption in zeolites. **Microporous and Mesoporous Materials**. v.41 p.227-240, 2000.

MARIANO, J.B. Impactos Ambientais do Refino de Petróleo, **Tese de Mestrado**, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2001.

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

MELLO, J.M.M. Modelagem matemática, simulação numérica e ensaios experimentais da biodegradação dos compostos BTX em um reator com biofilme. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2012.

MELLO, J.M.M. BRANDÃO, H.L.B SOUZA, A.A.U, SILVA, A. SOUZA, S.M.A.G.U. Biodegradation of BTEX compounds in a biofilm reactor—Modeling and simulation. **Journal of Petroleum Science and Engineering**. v.70 p.131–139, 2010.

MELLO, J.M.M. Biodegradação dos compostos BTEX em um reator com biofilme. Florianópolis, 2007.

MORAES, L.C.P. Tratamento de efluentes têxteis simulados utilizando técnicas de adsorção. **Dissertação de mestrado**. Universidade do Porto, 1996.

MOZO, I. LESAGE, G. YIN, J. Y. BESSIERE, Y. BARNA, L. SPERANDIO, M. Dynamic modeling of biodegradation and

volatilization of hazardous aromatic substances in aerobic bioreactor. **Water research** v.46 p.5327 e 5342, 2012.

NAAS, M.H.E; ACIO, J.A; TELIB, A.E. Aerobic biodegradation of BTEX: Progresses and Prospects. **Journal of Environmental Chemical Engineering** v.2, p. 1104–1122, 2014.

MUKHERJEE, S. KUMAR, S. MISRA, K. FAN, M. Removal of phenols from water environment by activated carbon, bagasse ash and wood charcoal. **Chemical Engineering Journal** v.129 p.133–142, 2007.

MUSTAFA, G.S Reutilização de efluentes líquidos em indústria petroquímica. **Dissertação de mestrado**. UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA. Salvador, 1998.

NADAL, M. SCHUHMACHER, M. DOMINGO, J.L. **Metal pollution of soils and vegetation in an area with petrochemical industry**. Science of the Total Environment. v.321 p. 59–69, 2004.

NANDI, B.K.; GOSWAMI, A.; PURKAIT, M.K. Adsorption characteristics of brilliant green dye on Kaolin. **Journal of Hazardous Materials**. V.161, p. 387-395, 2009.

NEIVA, J. **Conheça o Petróleo / Prefácio de Ozires Silva**. 5a ed., Rio de Janeiro: Ao Livro Técnico, 1986.

NOURMORADIA, H. NIKAEENA, B. NEJAD (HAJIAN), M.M. Removal of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene (BTEX) from aqueous solutions by montmorillonite modified with nonionic surfactant: Equilibrium, kinetic and thermodynamic study. **Chemical Engineering Journal**, 2012.

NUTHITIKUL, K., SRIKHUN, S.,HIRUNPRADITKOON,S. Kinetics and equilibrium adsorption of Basic Green 4 dye on activated carbon derived from durian peel: Effects of pyrolysis and post-treatment conditions. **Journal of Hazardous Materials** v.178 p.729–738, 2010.

OLIVEIRA, L.D. ESCARIOT, S. BROETTO, A.D.B. TROYNER, F.A. VIDAL, C.M.S. Efluentes líquidos de refinaria de petróleo: origem, caracterização e tratamento. **Campus Irati**, 2009.

PASSOS, C.G. Síntese caracterização e propriedades adsorventes de sílica organofuncionalizada com grupo 10-amino 4-azadecil. **Dissertação de mestrado**. Porto Alegre, 2007.

PEDROZO, M.F.M; BARBOSA, E.M; CORSEUIL, H.X.; SCHNEIDER, M.R; LINHARES, M.M. Ecologia e avaliação de risco do petróleo. Salvador, p.78-79, 2002.

PETROBRAS, site <http://www.petrobras.com.br/pt/energia-e-tecnologia/fontes-de-energia/petroleo/> data: 23/12/2012

PETROVA,B. TSYNTSARSKI,B. BUDINOVA,T. PETROV,N. VELASCO,L.F. ANIA,C.O. Activated carbon from coal tar pitch and furfural for the removal of p-nitrophenol and m-aminophenol. **Chemical Engineering Journal** v.172 p.102–108, 2011.

PIMENTEL, P. M.; GONZÁLEZ, G.; MELO, M. F. A.; MELO, D. M. A.; SILVA JR, C. N.; ASSUNÇÃO, A. L. C. Removal of lead ions from aqueous solution by retorted shale. **Separation and purification technology**, v. 56, n. 3, p. 348-353, 2007.

PIMENTEL, P. M. S. J. C. N., MELO,D.M.A M. MELO,F. MALDONADO. HENRIQUE,D.M. Caracterização e uso de xisto para adsorção de chumbo (II) em solução. **cerâmica**, v. 52, p. 194-199, 2006.

PIMENTEL, P. M.; MELO, M. A. F.; MELO, D. M. A.; ASSUNÇÃO, A. L. C.; HENRIQUE, D. M.; SILVA JR, C. N.; GONZÁLEZ, G. Kinetics and thermodynamics of cu(II) adsorption on oil shale wastes. **Fuel processing technology**, v. 89, n. 1, p. 62-67, 2008.

PIMENTEL, P. M.; OLIVEIRA, R. M. P. B.; MELO, D. M. A.; ANJOS, M. J.; MELO, M. A. F.; GONZÁLEZ, G. Characterization of retorted shale for use in heavy metal removal. **applied clay science**, v. 48, n. 3, p. 375-378, 2010.

PINTO, C.S. Curso básico de Mecânica dos solos em 16 aulas. p.11 e 12. **Oficina de textos**. 3ª edição. São Paulo, 2000.

RAHCHAMANI, J. MOUSAVI, H.Z. BEHZAD, M. Adsorption of methyl violet from aqueous solution by polyacrylamide as an adsorbent: Isotherm and kinetic studies. **Desalination**. v.267 p.256–260, 2011.

REINIK, J.; HEINMAA, I.; KIRSO, U.; KALLASTE, T.; RITAMÄKI, J.; BOSTRÖM, D.; PONGRÁCZ, E.; HUUHTANEN, M.; LARSSON, W.; KEISKI, R.; KORDÁS, K.; MIKKOLA, J.-P. Alkaline modified oil shale fly ash: optimal synthesis conditions and preliminary tests on CO₂ adsorption. **Journal of hazardous materials**, v. 196, n. 0, p. 180-186, 2011.

REZAEI, F. e WEBLEY, P. Optimum structured adsorbents for gas separation processes. **Chemical Engineering Science** v.64 (2009) p.5182 – 5191

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIN, I.C.S.F.; MELO, L. F. C.; MARDIN, I.C.S.F.; MELO, L.C.S.F. Validação de métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n.5, p.771-180, 2004.

ROBLEDO-ORTÍZ, J.R., D.E. RAMÍREZ-ARREOLA, D.E A.A. PÉREZ FONSECA, A.A, C. GÓMEZ, C. O. GONZÁLEZ-REYNOSO O.J. RAMOS-QUIRARTE J. , R. GONZÁLEZ-NÚÑEZ R. Benzene, toluene, and o-xylene degradation by free and immobilized *P. putida* F1 of postconsumer agave-fiber / polymer foamed composites, International Biodeterioration & Biodegradation.

SALEHIA, R., ARAMIA, M., MAHMOODIB, N.M., BAHRAMIA, H. KHORRAMFARA, S. Novel biocompatible composite (Chitosan–zinc oxide nanoparticle): Preparation, characterization and dye adsorption properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** v.80 p.86–93, 2010.

SANTOS, P.S. **Ciência e tecnologia de argilas**. v.3,p.922-923. Editora: Edgard Blucher Ltda. São Paulo, 1992.

SHAWABKEH, R. AL-HARAHSEH, A AL-OTOOM, A Copper and zinc sorption by treated oil shale ash. **Separation and Purification Technology** v.40 p. 251–257, 2004.

SHEINDORF, C REBHUN, M and SHEINTUCH, M. Organic pollutants adsorption from multicomponent systems modeled by Freundlich type isotherm. **Water Research**. v.16, p.357 to 362, 1982.

SHEINTUCH, M.; REBHUN, M. Adsorption isotherms for multi solute systems with known and unknown composition. **Water Research** vol. 22, no. 4, p. 421-430, 1988.

SHEN, D. FAN, J. ZHOU, W. GAO, B. YUE, Q. KANG, Q. Adsorption kinetics and isotherm of anionic dyes onto organo-bentonite from single and multisolute systems. **Journal of Hazardous Materials** v.172, p.99–107, 2009.

SEIFI, L., TORABIAN, A., KAZEMIAN, H., BIDHENDI, G.N., AZIMI, A.A., FARHADI, F., NAZMARA, S. Kinetic study of BTEX removal using granulated surfactant-Modified natural zeolites nanoparticles. **Water, Air, & Soil Pollution**, v.219 p.443-457, 2011.

SEN, T.K E GOMEZ, D. Adsorption of zinc (Zn^{2+}) from aqueous solution on natural bentonite. **Desalination**. v. 267 p.286–294, 2011.

SCHMIDELL, W. LIMA, U.A. AQUARONE, E. BORZANI, WALTER. *Biotecnologia industrial*. Ed. Edgard Blucher Ltda- São Paulo, 2001.

SOHN, S. E KIM, D. Modification of Langmuir isotherm in solution systems—definition and utilization of concentration dependent factor. **Chemosphere**. v.58 p.115–123, 2005.

SOUZA, P.F. Estudo da remoção de óleos e graxas em efluentes de petróleo utilizando bagaço da cana. **FAPESB**, 2008.

SKOOG, D.A.; WEST, D.M; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. **Fundamentos de Química Analítica**. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 8ª edição, 2006.

STACHIW, R., NEVES, JR. F., ARRUDA, L.V.R. E ASSIS, L.M. Modeling and Simulation of Organic Compounds **Adsorption Process in Brazilian Oil Shale**. 17th European Symposium on Computer Aided Process Engineering – ESCAPE17, Romênia, 2007.

TAVARES, J.K. Remoção de compostos BTEX de soluções aquosas por adsorção. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

TEIXEIRA-NETO, E E ÂNGELATEIXEIRA-NETO, A.A Modificação química de argilas: desafios científicos e Tecnológicos para obtenção de novos produtos com maior valor agregado. **Química Nova**, v.32, n.3, 809-817, 2009.

TSAI, S.-L. LIN, C.W, WU, C.H. SHEN, C.M Kinetics of xenobiotic biodegradation by the *Pseudomonas* sp. YATO411 strain in suspension and cell-immobilized beads. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**. v. 44, 303–309, 2013.

TSEKOVA, D. TODOROVA, S. GANEVA. Removal of heavy metals from industrial wastewater by free and immobilized cells of *Aspergillus niger*, **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 644 p.47–51, (2010)

TUÈTEM, APAK, R, UÈ NAL, A. Adsorptive removal of chlorophenols from Water by bituminous shale. **Water. Research**. v. 32, n.8, p. 2315-2324, 1997.

URLU, M. KARAOĞLU, H Adsorption of ammonium from an aqueous solution by fly ash and sepiolite: Isotherm, kinetic and thermodynamic analysis. **Microporous and Mesoporous Materials** v.139, p.173–178, 2011.

VALDMAN, E.; ERIJMAN, L.; PESSOA, F.L.P.; LEITE, S.G.F. 2001. Continuous Biosorption of Cu and Zn by Immobilized Waste Biomass *Sargassum* sp. **Process Biochemistry**, 36:869-873.

VAN HAMME, J. D.; SINGH, A.; WARD, O. P. Recent advances in petroleum microbiology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.67, n.4, p.503-549, dezembro 2003.

VILAR, W. C. T. BRITO, A. L. F. LABORDE, H. M. RODRIGUES, M. G. F. FERREIRA, H. S. Ativação térmica e caracterização da argila chocolate visando sua aplicação como

adsorvente na remoção de níquel. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**. v.4.3 p.39-47, 2009.

WIBOWO,N.SETYADHI,WIBOWO,L.D.SETIAWAN,ISMADJI,JS. Adsorption of benzene and toluene from aqueous solutions onto activated carbon and its acid and heat treated forms: Influence of surface chemistry on adsorption . **Journal of Hazardous Materials** v.146, p.237–242,2007.

WHITAKER, S. A Simple Geometrical Derivation of the Spatial Averaging Theorem, **Chemical Engineering Education**, v.19, n.1, p.18-21, 50-52, 1985.

WU, F.C., LIUB, B., WUC, K., TSENGD, R. A new linear form analysis of Redlich–Peterson isotherm equation for the adsorptions of dyes. **Chemical Engineering Journal**. v.162, p.21–27, 2010.

YIN, J. CHEN, R. JI, Y .ZHAO, C .ZHAO, C.G HAIXIA. KEY, H.Z.S Adsorption of phenols by magnetic polysulfone microcapsules containing tributyl phosphate. **Chemical Engineering Journal** v.157, p.466–474, 2010.

ZHANG,L; CHAO ZHANG,C; CHENG,Z; YAO,Y ; CHEN,J. Biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and o-xylene by the bacterium *Mycobacterium cosmeticum* byf-4. **Chemosphere** v.90, p.1340–1347, 2013

ZHU, S.; BELL, P. R. F.; GREENFIELD, P. F. Adsorption of pyridine onto spent rundle oil shale in dilute aqueous solution. **water research**, v. 22, n. 10, p. 1331-1337, 1988.

ZHU, S.; BELL, P. R. F.; GREENFIELD, P. F. Quinoline adsorption onto combusted rundle spent shale in dilute aqueous solution at the natural ph 8. **Water research**, v. 29, n. 5, p. 1393-1400, 1995.

APÊNDICE A – Determinação da biomassa

A.1 DOSAGEM DE PROTEÍNAS – MÉTODO DE LOWRY

Dosagem de proteínas – Método de Lowry

Reativos

- 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 AB: 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} : 10 mg BSA em 100 mL de água destilada, adicionar cuidadosamente água no balão volumétrico para evitar a formação de bolhas. Conservar sob refrigeração (não agitar).

Procedimento experimental

Em Suspensão

- Extração de Proteínas com NaOH 1 N a 80°C . 5 mL de solução padrão de BSA ou de amostra, 5 mL de NaOH 1 N. Agitar por 5 minutos com ultrassom e recobrir com papel alumínio, deixar em banho maria a 80°C por 30 minutos. Agitar com ultrassom.
- Curva Padrão Preparar uma série de amostras de 10 a 100 mL.L^{-1} de BSA. A partir da solução a $100 \text{ mg de BSA.L}^{-1}$, conforme indicado na Tabela A.1

Tabela A.1– Diluições da Albumina Bovina para preparação de curva de calibração.

| BSA mg/L | V _{BSA} mL | V _{NaOH} mL |
|----------|---------------------|----------------------|
| 0 | 0,0 | 1,0 |
| 10 | 0,10 | 0,9 |
| 30 | 0,30 | 0,7 |
| 50 | 0,50 | 0,5 |
| 80 | 0,80 | 0,8 |
| 100 | 1,0 | 0,0 |

• Dosagem

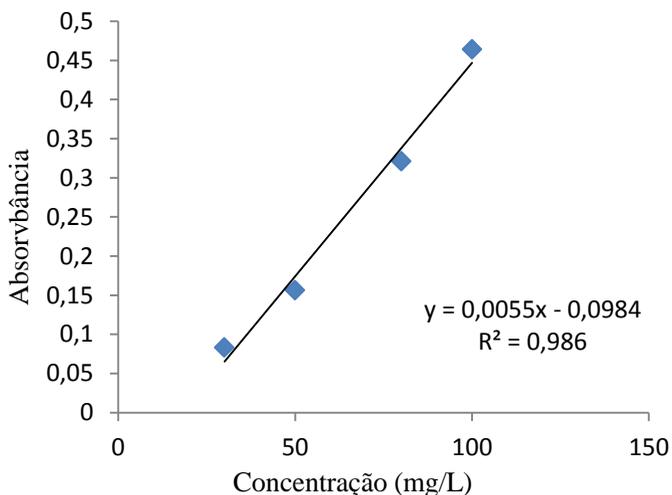
- 1 mL de solução de proteína a dosar.
- 3 mL de solução AB. Cobrir com parafilme.

- Agitar por 5 minutos no Ultrassom e esperar por 10 minutos precisos ao abrigo da luz.
- Adicionar 0,3 mL de reativo de Folin 1 N. Cobrir com parafilme.
- Agitar por 5 minutos no Ultrassom, deixar em repouso por 30 minutos ao abrigo da luz.
- Efetuar a medida após os 30 minutos num comprimento de onda de 760 nm.

No suporte

- Pesem 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 ultrassom e recobrir com papel alumínio, deixar em banho Maria a 80°C por 30 minutos. Após agitar novamente com ultrassom por 5 minutos.
- Dosagem: idem a dosagem em suspensão.

A.2 CURVA DE CALIBRAÇÃO DA ALBUMINA BOVINA



A.3 RESULTADOS DA ANÁLISE DE PROTEÍNAS

Através da equação da reta da curva de calibração é possível obter a quantidade de proteína em mg/L do xisto *in natura* e nas biopartículas do experimento em batelada. A quantidade de proteína por

grama de suporte foi obtida através da equação A.01, que multiplica a quantidade de proteína em litro pela quantidade da amostra coletada e seu resultado divide-se pela massa de partículas das quais se extraíram as proteínas.

$$Proteína \left(\frac{mg}{g_{suporte}} \right) = \frac{Proteínas (mg/L) * 0,005L}{Massa da partícula seca (g_{suporte})} \quad (A.01)$$

A tabela A.2 apresenta os valores de quantidade de proteína em mg/L e em $mg_{proteína}/g_{suporte\ seco}$ para o suporte (xisto) *in natura* e para o biorreator em batelada.

Tabela A.2. Valores de proteína em mg/L e em $mg_{proteína}/g_{suporte\ seco}$ para o suporte (xisto) *in natura* e para o biorreator em batelada.

| Amostra | Quantidade de proteína (mg.L ⁻¹) | | mg _{proteína} /g _{suporte seco} | |
|---------|--|----------|---|----------|
| | Xisto in natura | Batelada | Xisto in natura | Batelada |
| 1 | 32,982 | 4058,8 | 0,153 | 18,859 |
| 2 | 64,073 | 3461,527 | 0,298 | 16,084 |
| 3 | 40,618 | 4952,436 | 0,189 | 23,011 |
| Média | 45,891 | 4157,588 | 0,213 | 19,318 |

A massa de biopartículas molhada coletada no biorreator, a qual se extraiu o biofilme foi de 2,133 g, o que equivale a 1,066 g de biopartícula seca.

ANEXO A – Metodologia de identificação dos micro-organismos utilizada pela empresa neoprospecta.

As amostras coletadas foram imediatamente transportadas até os laboratórios de análise, em Florianópolis, onde foram processadas de acordo com o fluxo operacional do diagnóstico microbiológico digital.

O diagnóstico microbiológico digital é um método de análise que envolve um conjunto de protocolos moleculares e biocomputacionais para detecção e rastreamento em larga escala de micro-organismos relacionados às IRAS.

O primeiro passo do diagnóstico microbiológico digital consiste na purificação do DNA de todos os micro-organismos presentes em cada amostra em paralelo. Ao final deste passo obtém-se o material genético purificado de todas as células de bactérias, fungos e protozoários presentes nos swabs. É possível com uma modificação do método obter em paralelo também material genético de diferentes tipos de vírus presentes nas amostras. Contudo, neste trabalho foi utilizado apenas o material genético das bactérias presentes na amostra. Após a purificação do DNA seguem-se dois passos de preparo molecular das amostras onde são introduzidos códigos de DNA específicos no material genético purificado. Estes códigos tem a finalidade de prover posteriormente a separação das amostras dentro do fluxo de análise computacional. O passo de preparo molecular permite a análise em paralelo de até 512 amostras, sendo que cada amostra pode identificar milhares de espécies de micro-organismos, incluindo dados quantitativos para cada espécie. A etapa seguinte ao preparo molecular é a realização do sequenciamento de DNA utilizando a plataforma de sequenciamento de nova geração MiSeq da Illumina.

Este sequenciamento produz mais de 50 milhões de leituras de moléculas de DNA, transformando os dados moleculares em dados digitais mediante análises biocomputacionais. Posteriormente os dados são processados por um software especializado e carregados em uma plataforma específica para análise e interpretação dos resultados, o software Epiome.

ANEXO II

1- Tabela das espécies de bactérias encontradas no lodo *in natura* (amostra 1) e seus números de sequenciamentos encontrados.

| Espécie identificada | Nº sequências <i>in natura</i> |
|--|---------------------------------------|
| <i>Acetobacterium fimetarium</i> | 3 |
| <i>Aciditerrimonas sp. CH22-21</i> | 13 |
| <i>Acidobacteria bacterium IGE-017</i> | 3 |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 18 |
| <i>Acinetobacter sp. B-LS-R2A2</i> | 1 |
| <i>Acinetobacter sp. DR.Y12</i> | 2 |
| <i>Acinetobacter sp. LS-110</i> | 1 |
| <i>Acinetobacter sp. LUH4547</i> | 106 |
| <i>Acinetobacter sp. NIPH 3623</i> | 4 |
| <i>Acinetobacter sp. RUH53T</i> | 11 |
| <i>Acinetobacter sp. ZY022</i> | 11 |
| <i>Acinetobacter sp. phenon 9</i> | 1 |
| <i>Actinotalea sp. M0-14</i> | 8 |
| <i>Afipia sp. LMG 19832</i> | 6 |
| <i>Alistipes putredinis</i> | 2 |
| <i>Altererythrobacter sp. OB38-2</i> | 4 |
| <i>Amaricoccus macauensis</i> | 1 |
| <i>Antarctic bacterium R-7614</i> | 1291 |
| <i>Antarctic bacterium R-7687</i> | 3 |
| <i>Arcobacter cibarius</i> | 1 |
| <i>Arcobacter sp. R-28214</i> | 5 |
| <i>Arcobacter sp. R-28314</i> | 4 |
| <i>Azospira restricta</i> | 10 |
| <i>Bacteroides eggerthii</i> | 1 |
| <i>Bacteroides graminisolvens</i> | 2 |

| | |
|---|-----|
| <i>Bacteroides ovatus</i> | 2 |
| <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> | 1 |
| <i>Bacteroides uniformis</i> | 1 |
| <i>Bacteroides vulgatus</i> | 1 |
| <i>Beijerinckia mobilis</i> | 28 |
| <i>Bosea</i> sp. LC086 | 2 |
| <i>Brachymonas chironomi</i> | 1 |
| <i>Bradyrhizobium elkanii</i> | 1 |
| <i>Bradyrhizobium</i> sp. AM45 | 1 |
| <i>Bradyrhizobium</i> sp. ORS 138 | 546 |
| <i>Carnobacterium jeotgali</i> | 17 |
| <i>Carnobacterium</i> sp. aG53 | 14 |
| <i>Cellulosilyticum lentocellum</i> | 1 |
| <i>Chelatococcus asaccharovorans</i> | 2 |
| <i>Chlorobium limicola</i> | 1 |
| <i>Chloroflexi</i> bacterium ET1 | 24 |
| <i>Chloroflexi</i> bacterium canine oral taxon 408 | 3 |
| <i>Christensenella minuta</i> | 1 |
| <i>Chryseobacterium antarcticum</i> | 2 |
| <i>Chryseobacterium</i> sp. p20H | 13 |
| <i>Chryseobacterium yonginense</i> | 2 |
| <i>Cloacibacterium normanense</i> | 1 |
| <i>Clostridiaceae</i> bacterium 80Wd | 101 |
| <i>Clostridiaceae</i> bacterium A4d | 2 |
| <i>Clostridiaceae</i> bacterium DJF_VP39k1 | 2 |
| <i>Clostridiaceae</i> bacterium FH042 | 4 |
| <i>Clostridiaceae</i> bacterium JN18_V56_P | 15 |
| <i>Clostridium baratii</i> | 3 |
| <i>Clostridium botulinum</i> | 1 |
| <i>Clostridium bowmanii</i> | 128 |

| | |
|---|-------|
| <i>Clostridium carboxidivorans</i> | 746 |
| <i>Clostridium colicanis</i> | 4 |
| <i>Clostridium estertheticum</i> | 1 |
| <i>Clostridium frigidis</i> | 1 |
| <i>Clostridium leptum</i> | 74 |
| <i>Clostridium magnum</i> | 1 |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 8 |
| <i>Clostridium psychrophilum</i> | 1093 |
| <i>Clostridium sp. 6-14</i> | 1 |
| <i>Clostridium sp. 6-44</i> | 39728 |
| <i>Clostridium sp. BL-24</i> | 1 |
| <i>Clostridium sp. KD-31</i> | 3 |
| <i>Clostridium sp. KOPRI80152</i> | 29 |
| <i>Clostridium sp. Kas107-2</i> | 3 |
| <i>Clostridium sp. M-43</i> | 2 |
| <i>Clostridium sp. MT8</i> | 1 |
| <i>Clostridium sp. P1-2-1</i> | 6 |
| <i>Clostridium sp. P530(1)</i> | 435 |
| <i>Clostridium sp. P530(2)</i> | 49 |
| <i>Clostridium sp. R6T</i> | 1 |
| <i>Clostridium-like species</i> | 2 |
| <i>Collimonas arenae</i> | 8 |
| <i>Comamonas testosteroni</i> | 9 |
| <i>Conexibacter woesei</i> | 2 |
| <i>Corynebacterium tuberculostearicum</i> | 4 |
| <i>Dechloromonas denitrificans</i> | 1 |
| <i>Defluviicoccus vanus</i> | 3 |
| <i>Defluviimonas sp. CC-PW-78</i> | 2 |
| <i>Desulfovibrio carbinolicus</i> | 1 |
| <i>Desulfovibrio sp. A45</i> | 1 |
| <i>Diaphorobacter sp. C50</i> | 50 |

| | |
|--|----|
| <i>Duganella</i> sp. IRT17 | 1 |
| <i>Enterobacter</i> sp. ATCC 27993 | 1 |
| <i>Enterobacter</i> sp. enrichment culture clone HSL74 | 1 |
| <i>Enterobacteriaceae</i> bacterium SL1_M11 | 1 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 5 |
| <i>Enterovibrio calviensis</i> | 6 |
| <i>Erwinia</i> sp. THG-CT23 | 1 |
| <i>Eubacterium</i> sp. BBDP67 | 1 |
| <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> | 2 |
| <i>Firmicutes</i> bacterium LC 13R | 2 |
| <i>Flavobacterium sinopsychrotolerans</i> | 1 |
| <i>Flavobacterium</i> sp. HME6124 | 4 |
| <i>Flavobacterium</i> sp. MSY2 | 1 |
| <i>Gaiella occulta</i> | 1 |
| <i>Gemmobacter fontiphilus</i> | 1 |
| <i>Gordonia</i> sp. IBT2679-051 | 1 |
| <i>Hyphomicrobiaceae</i> bacterium LX49 | 1 |
| <i>Hyphomicrobium denitrificans</i> | 1 |
| <i>Hyphomicrobium</i> sp. KC-IT-W2 | 1 |
| <i>Hyphomicrobium</i> sp. W1-1B | 2 |
| <i>Janthinobacterium agaricidamnorum</i> | 1 |
| <i>Janthinobacterium lividum</i> | 56 |
| <i>Janthinobacterium</i> sp. CH24-3 | 7 |
| <i>Janthinobacterium</i> sp. HC3-12 | 49 |
| <i>Janthinobacterium</i> sp. HLX7-1 | 5 |
| <i>Janthinobacterium</i> sp. PI12 | 12 |
| <i>Janthinobacterium</i> sp. PR1-9 | 2 |
| <i>Janthinobacterium</i> sp. ZS20-3 | 2 |
| <i>Janthinobacterium</i> sp. bk_51 | 1 |
| <i>Janthinobacterium</i> sp. blxAG | 1 |

| | |
|--------------------------------------|------|
| <i>Kaistia adipata</i> | 1 |
| <i>Kineosphaera limosa</i> | 1 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1 |
| <i>Klebsiella sp. HaMC2</i> | 1 |
| <i>Lactobacillus casei</i> | 1 |
| <i>Lactobacillus sp. C30An7</i> | 3 |
| <i>Lautropia sp. TeTO</i> | 1 |
| <i>Lentzea albida</i> | 1 |
| <i>Longilinea arvoryzae</i> | 30 |
| <i>Lysobacter ximonensis</i> | 1 |
| <i>Macellibacteroides fermentans</i> | 1772 |
| <i>Massilia aurea</i> | 1 |
| <i>Massilia brevitalea</i> | 1 |
| <i>Massilia sp. C1804</i> | 1 |
| <i>Massilia sp. OS258</i> | 1 |
| <i>Massilia sp. Tibet-IIU22</i> | 5 |
| <i>Massilia sp. Tibet-IIU65</i> | 1 |
| <i>Massilia timonae</i> | 1 |
| <i>Mesorhabditis sp.</i> | 1 |
| <i>Mesorhizobium plurifarum</i> | 22 |
| <i>Methanosphaerula palustris</i> | 6 |
| <i>Methylococcus mobilis</i> | 1 |
| <i>Methylocystis rosea</i> | 9 |
| <i>Methylocystis sp. 10</i> | 86 |
| <i>Methylosinus sp. NCIMB 13214</i> | 14 |
| <i>Methylosinus trichosporium</i> | 53 |
| <i>Mycobacterium flavescens</i> | 11 |
| <i>Mycobacterium insubricum</i> | 8 |
| <i>Mycobacterium neoaurum</i> | 2 |
| <i>Mycobacterium palustre</i> | 1 |
| <i>Mycobacterium rhodesiae</i> | 1 |

| | |
|--|------|
| <i>Mycobacterium sp. BB37</i> | 1 |
| <i>Mycobacterium sp. TA5</i> | 3 |
| <i>Nitratireductor sp. 2-9</i> | 1 |
| <i>Novosphingobium aromaticivorans</i> | 1 |
| <i>Olsenella umbonata</i> | 1 |
| <i>Ottowia sp. GCS-AN-3</i> | 9 |
| <i>Oxalicibacterium solurbis</i> | 3 |
| <i>Paenibacillus sp. 5M01</i> | 2 |
| <i>Parabacteroides chartae</i> | 16 |
| <i>Paracoccus alcaliphilus</i> | 7 |
| <i>Paracoccus sp. MBIC1145</i> | 1 |
| <i>Phenylobacterium koreense</i> | 5 |
| <i>Pleomorphomonas koreensis</i> | 1 |
| <i>Pleomorphomonas oryzae</i> | 12 |
| <i>Proteiniclasticum ruminis</i> | 7 |
| <i>Pseudaminobacter salicylatoxidans</i> | 43 |
| <i>Pseudomonadales bacterium S5A</i> | 2 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 3 |
| <i>Pseudomonas agarici</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas alcaliphila</i> | 1147 |
| <i>Pseudomonas amygdali</i> | 6 |
| <i>Pseudomonas brassicacearum</i> | 15 |
| <i>Pseudomonas coronafaciens</i> | 2 |
| <i>Pseudomonas corrugata</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 47 |
| <i>Pseudomonas fragi</i> | 11 |
| <i>Pseudomonas geniculata</i> | 32 |
| <i>Pseudomonas jessenii</i> | 13 |
| <i>Pseudomonas kilonensis</i> | 2156 |
| <i>Pseudomonas mandelii</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas marginalis</i> | 10 |

| | |
|---------------------------------------|-----|
| <i>Pseudomonas mendocina</i> | 4 |
| <i>Pseudomonas orientalis</i> | 904 |
| <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> | 11 |
| <i>Pseudomonas poae</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> | 9 |
| <i>Pseudomonas putida</i> | 109 |
| <i>Pseudomonas reactans</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas rhizosphaerae</i> | 12 |
| <i>Pseudomonas sp. 38</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. 4-9(2010)</i> | 8 |
| <i>Pseudomonas sp. 6aug05</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. 76</i> | 12 |
| <i>Pseudomonas sp. A106</i> | 13 |
| <i>Pseudomonas sp. A1064</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. A2102</i> | 6 |
| <i>Pseudomonas sp. AU12</i> | 3 |
| <i>Pseudomonas sp. Asd M4-6</i> | 2 |
| <i>Pseudomonas sp. B-1171</i> | 10 |
| <i>Pseudomonas sp. B1099</i> | 2 |
| <i>Pseudomonas sp. BJSX</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. BSLY</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. Ch313</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. DB38</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. DF7EH1</i> | 11 |
| <i>Pseudomonas sp. DZQ5</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. EGY-SCuP1</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. FAIR/BE/F/GH94</i> | 25 |
| <i>Pseudomonas sp. G1DM-43</i> | 16 |
| <i>Pseudomonas sp. GD200</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. GLE121</i> | 47 |
| <i>Pseudomonas sp. GmFRB092</i> | 3 |

| | |
|-------------------------------------|------|
| <i>Pseudomonas sp. HHS8</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. HY4(2010)</i> | 6 |
| <i>Pseudomonas sp. IGCAR-14/08</i> | 11 |
| <i>Pseudomonas sp. IST112</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. IrT-R5M2-58</i> | 223 |
| <i>Pseudomonas sp. IrT-R9M1-191</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. Is3</i> | 8 |
| <i>Pseudomonas sp. JPB-1.01</i> | 4 |
| <i>Pseudomonas sp. KB40</i> | 2 |
| <i>Pseudomonas sp. KNA6-5</i> | 2 |
| <i>Pseudomonas sp. KOPRI80149</i> | 4 |
| <i>Pseudomonas sp. M80C4</i> | 2 |
| <i>Pseudomonas sp. MY1416</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. N19.27</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. NBRC 101044</i> | 87 |
| <i>Pseudomonas sp. NJ-24</i> | 3 |
| <i>Pseudomonas sp. Nj-56</i> | 3 |
| <i>Pseudomonas sp. P3(2010)</i> | 43 |
| <i>Pseudomonas sp. P4(2010)</i> | 6 |
| <i>Pseudomonas sp. PKG89</i> | 2 |
| <i>Pseudomonas sp. POP HV4</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. PTPbra-1</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. QLX11</i> | 2 |
| <i>Pseudomonas sp. RKS1-1</i> | 6 |
| <i>Pseudomonas sp. RPBI</i> | 3 |
| <i>Pseudomonas sp. SGb396</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. SR67</i> | 58 |
| <i>Pseudomonas sp. S_S_MRS_2</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. Tibet-IB13</i> | 4 |
| <i>Pseudomonas sp. W13</i> | 1560 |
| <i>Pseudomonas sp. W14</i> | 10 |

| | |
|---|------|
| <i>Pseudomonas sp. W15Feb20</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. W15Feb37</i> | 19 |
| <i>Pseudomonas sp. WB20-11</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. WS-7</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. c287</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. d130</i> | 5 |
| <i>Pseudomonas sp. enrichment culture clone CL-12</i> | 2 |
| <i>Pseudomonas sp. enrichment culture clone HSL84</i> | 19 |
| <i>Pseudomonas sp. ps10-1</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. ps13-1</i> | 12 |
| <i>Pseudomonas sp. ps4-19</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i> | 6 |
| <i>Pseudomonas syringae</i> | 5869 |
| <i>Pseudomonas syringae group genomsp. 3</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas syringae group genomsp. 7</i> | 1973 |
| <i>Pseudomonas trautweinii</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas trivialis</i> | 11 |
| <i>Pseudomonas veronii</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas xanthomarina</i> | 6 |
| <i>Psychrobacter aff. glacinola A1/C-aer/OII</i> | 1 |
| <i>Psychrobacter faecalis</i> | 9 |
| <i>Psychrobacter sp. NBRC 101051</i> | 3 |
| <i>Psychrobacter sp. Nj-77</i> | 1 |
| <i>Psychrobacter sp. TAD1</i> | 1 |
| <i>Rahnella aquatilis</i> | 2 |
| <i>Rhizobium sp. Q54</i> | 1 |
| <i>Rhodobacter sp. 13630K</i> | 21 |
| <i>Rhodobacter sp. JPB-1.18</i> | 2 |
| <i>Rhodoblastus acidophilus</i> | 3 |
| <i>Rhodoblastus sphaemicola</i> | 2 |

| | |
|---|-----|
| <i>Rikenellaceae bacterium WN081</i> | 1 |
| <i>Roseburia intestinalis</i> | 2 |
| <i>Ruminococcus bromii</i> | 1 |
| <i>Sedimentibacter hydroxybenzoicus</i> | 175 |
| <i>Sedimentibacter sp. BRS2</i> | 35 |
| <i>Sedimentibacter sp. JN18_V27_I</i> | 2 |
| <i>Serratia plymuthica</i> | 1 |
| <i>Shewanella glacialipiscicola</i> | 15 |
| <i>Shewanella putrefaciens</i> | 4 |
| <i>Sphingobacterium sp. HaLB8</i> | 6 |
| <i>Sphingobium jiangsuense</i> | 3 |
| <i>Sphingomonas leidyi</i> | 51 |
| <i>Sphingomonas sp.</i> | 19 |
| <i>Sphingomonas sp. DS3-1</i> | 13 |
| <i>Sphingomonas sp. HL7</i> | 1 |
| <i>Sphingomonas sp. JEM-14</i> | 8 |
| <i>Sphingomonas sp. JS8(2011)</i> | 1 |
| <i>Sphingomonas sp. MBIC3020</i> | 2 |
| <i>Sphingopyxis sp. 2-2</i> | 2 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 |
| <i>Staphylococcus capitis</i> | 1 |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 1 |
| <i>Stenotrophomonas sp. LMG 19833</i> | 1 |
| <i>Steroidobacter sp. WWH78</i> | 11 |
| <i>Sulfurospirillum alkalitolerans</i> | 8 |
| <i>Sulfurospirillum cavolei</i> | 1 |
| <i>Sulfurospirillum sp. EK7</i> | 70 |
| <i>Tetrasphaera elongata</i> | 3 |
| <i>Thermomonas brevis</i> | 1 |
| <i>Trichococcus collinsii</i> | 1 |
| <i>Trichococcus flocculiformis</i> | 21 |

| | |
|---------------------------------------|------|
| <i>Trichococcus palustris</i> | 10 |
| <i>Trichotomospora caesia</i> | 4 |
| <i>Triticum urartu</i> | 1 |
| <i>Tumebacillus flagellatus</i> | 1 |
| <i>Woodsholea maritima</i> | 4 |
| <i>Xanthobacter sp. INA43/2-2</i> | 1 |
| <i>Xanthomonas axonopodis</i> | 12 |
| <i>Yersinia aleksiciae</i> | 1 |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | 17 |
| <i>Yersinia frederiksenii</i> | 1 |
| <i>Yersinia intermedia</i> | 79 |
| <i>Yersinia similis</i> | 2 |
| <i>[Clostridium] bif fermentans</i> | 2 |
| <i>[Clostridium] hiranonis</i> | 151 |
| <i>[Clostridium] sticklandii</i> | 1 |
| <i>alpha proteobacterium HTA333</i> | 4 |
| <i>alpha proteobacterium HTA473</i> | 532 |
| <i>alpha proteobacterium KC-IT-F2</i> | 20 |
| <i>alpha proteobacterium KC-IT-F6</i> | 28 |
| <i>bacterium 14W432</i> | 220 |
| <i>bacterium 28S233</i> | 10 |
| <i>bacterium 28S514</i> | 16 |
| <i>bacterium 28W223</i> | 5 |
| <i>bacterium 409</i> | 7 |
| <i>bacterium 441</i> | 10 |
| <i>bacterium BLH-8E5</i> | 22 |
| <i>bacterium D78</i> | 1 |
| <i>bacterium DC22(2011)</i> | 3518 |
| <i>bacterium IrT-JG-65/15</i> | 1 |
| <i>bacterium Irt-JG1-64</i> | 8 |
| <i>bacterium NLAE-zl-P162</i> | 1 |

| | |
|--|------|
| <i>bacterium NTL160</i> | 6 |
| <i>bacterium NTL223</i> | 27 |
| <i>bacterium R2</i> | 5 |
| <i>bacterium TC8</i> | 2 |
| <i>bacterium TG149</i> | 1 |
| <i>bacterium THCL15</i> | 3 |
| <i>bacterium THCL17</i> | 2 |
| <i>bacterium UNSW3</i> | 1 |
| <i>bacterium enrichment culture clone EBA6</i> | 1 |
| <i>bacterium enrichment culture clone Ecwsrb046</i> | 7 |
| <i>bacterium hswx90</i> | 5 |
| <i>bacterium rJ14</i> | 5 |
| <i>beta proteobacterium HTC018</i> | 6633 |
| <i>endosymbiont of Ridgeia piscesae</i> | 7 |
| <i>endosymbiont of Sphenophorus levis</i> | 13 |
| <i>epsilon proteobacterium 49MY</i> | 5 |
| <i>gamma proteobacterium B15</i> | 52 |
| <i>gamma proteobacterium HTA580</i> | 14 |
| <i>gamma proteobacterium HTC042</i> | 1 |
| <i>iron-reducing bacterium enrichment culture clone FeC_1_D5</i> | 1 |
| <i>iron-reducing bacterium enrichment culture clone HN104</i> | 12 |
| <i>iron-reducing bacterium enrichment culture clone HN9</i> | 3 |
| <i>marine arctic deep-sea bacterium FF7a</i> | 1 |
| <i>marine bacterium W12</i> | 30 |
| <i>marine psychrotrophic bacterium MstK25</i> | 1 |
| <i>proteobacterium BHI80-16</i> | 9 |
| <i>proteobacterium K14</i> | 1 |
| <i>proteobacterium symbiont of Nilaparvata lugens</i> | 5 |

| | |
|---|------|
| <i>rape rhizosphere bacterium cse024</i> | 20 |
| <i>rumen bacterium NK4A65</i> | 3 |
| <i>soil DNB bacterium G14109</i> | 24 |
| <i>soil DNB bacterium G14130</i> | 1 |
| <i>swine fecal bacterium SD-Pec5</i> | 9 |
| <i>uncultured Acidobacteria bacterium</i> | 9 |
| <i>uncultured Acidobacterium sp.</i> | 2 |
| <i>uncultured Acinetobacter sp.</i> | 4 |
| <i>uncultured Anaerococcus sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Anaerolineaceae bacterium</i> | 12 |
| <i>uncultured Anaerophaga sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Arcobacter sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Bacteroides sp.</i> | 19 |
| <i>uncultured Bacteroidetes bacterium</i> | 2423 |
| <i>uncultured Bradyrhizobium sp.</i> | 3 |
| <i>uncultured Burkholderia sp.</i> | 2 |
| <i>uncultured Caldilinea sp.</i> | 3 |
| <i>uncultured Candidatus Saccharibacteria bacterium</i> | 3 |
| <i>uncultured Chloroflexi bacterium</i> | 4 |
| <i>uncultured Clostridia bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured Clostridiaceae bacterium</i> | 11 |
| <i>uncultured Clostridiales bacterium</i> | 238 |
| <i>uncultured Clostridium sp.</i> | 13 |
| <i>uncultured Comamonadaceae bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured Deferribacteres bacterium</i> | 5 |
| <i>uncultured Firmicutes bacterium</i> | 20 |
| <i>uncultured Halomonas sp.</i> | 4 |
| <i>uncultured Helicobacteraceae bacterium</i> | 3 |
| <i>uncultured Herminiimonas sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Hyphomicrobiaceae bacterium</i> | 1 |

| | |
|---|-------|
| <i>uncultured Janthinobacterium sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Leucobacter sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Limnobacter sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Massilia sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Methylocella sp.</i> | 2 |
| <i>uncultured Oxalobacteraceae bacterium</i> | 5 |
| <i>uncultured Pelosinus sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Peptostreptococcaceae bacterium</i> | 7 |
| <i>uncultured Porphyromonadaceae bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured Pseudomonadaceae bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured Pseudomonadales bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured Pseudomonas sp.</i> | 41 |
| <i>uncultured Rhizobiales bacterium</i> | 12 |
| <i>uncultured Rhodomicrobium sp.</i> | 13 |
| <i>uncultured Rubrobacterineae bacterium</i> | 2 |
| <i>uncultured Ruminococcaceae bacterium</i> | 80 |
| <i>uncultured Saprospiraceae bacterium</i> | 2684 |
| <i>uncultured Sedimentibacter sp.</i> | 31 |
| <i>uncultured Sphingomonadaceae bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured Sulfurospirillum sp.</i> | 5 |
| <i>uncultured actinobacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured alpha proteobacterium</i> | 26 |
| <i>uncultured anaerobic bacterium</i> | 108 |
| <i>uncultured bacterium</i> | 18543 |
| <i>uncultured bacterium CA26</i> | 1 |
| <i>uncultured bacterium GC55</i> | 4 |
| <i>uncultured bacterium MK11</i> | 2 |
| <i>uncultured bacterium SBR1039</i> | 1 |
| <i>uncultured bacterium SBR2013</i> | 12 |
| <i>uncultured bacterium SBR2060</i> | 1 |

| | |
|--|------|
| <i>uncultured beta proteobacterium</i> | 77 |
| <i>uncultured beta proteobacterium</i> <i>HF0010_04H24</i> | 592 |
| <i>uncultured compost bacterium</i> | 39 |
| <i>uncultured epsilon proteobacterium</i> | 63 |
| <i>uncultured epsilon proteobacterium 1014</i> | 388 |
| <i>uncultured epsilon proteobacterium 1065</i> | 2886 |
| <i>uncultured epsilon proteobacterium 1070</i> | 2 |
| <i>uncultured eubacterium WCHB1-54</i> | 9 |
| <i>uncultured eubacterium WCHB1-80</i> | 3 |
| <i>uncultured gamma proteobacterium</i> | 51 |
| <i>uncultured low G+C Gram-positive</i> <i>bacterium</i> | 2 |
| <i>uncultured marine bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured microorganism</i> | 1 |
| <i>uncultured organism</i> | 4 |
| <i>uncultured prokaryote</i> | 16 |
| <i>uncultured proteobacterium</i> | 8 |
| <i>uncultured rumen bacterium</i> | 3 |
| <i>uncultured rumen bacterium 3C0d-8</i> | 1 |
| <i>uncultured sludge bacterium</i> | 55 |
| <i>uncultured soil bacterium</i> | 50 |
| <i>unidentified</i> | 4 |
| <i>unidentified beta proteobacterium clone</i> <i>10.40</i> | 1 |

2- Tabela das espécies de bactérias encontradas nos micro-organismos adaptados (amostra 1) e seus números de sequenciamentos encontrados.

| Espécie identificada | Nº sequencias Microoorg- Adaptados |
|--|---|
| <i>Achromobacter sp. SR4</i> | 1 |
| <i>Acidobacteria bacterium IGE-017</i> | 1 |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 67 |
| <i>Acinetobacter johnsonii</i> | 2 |
| <i>Acinetobacter septicus</i> | 2 |
| <i>Acinetobacter sp. B-LS-R2A2</i> | 6 |
| <i>Acinetobacter sp. DR.Y12</i> | 3 |
| <i>Acinetobacter sp. Dui-5</i> | 1 |
| <i>Acinetobacter sp. LS-110</i> | 3 |
| <i>Acinetobacter sp. MBL-11-0202</i> | 1 |
| <i>Acinetobacter sp. NIPH 3623</i> | 7 |
| <i>Acinetobacter sp. RUH1139</i> | 7 |
| <i>Acinetobacter sp. RUH53T</i> | 43 |
| <i>Acinetobacter sp. W-17</i> | 1 |
| <i>Acinetobacter sp. ZSGR35</i> | 1 |
| <i>Acinetobacter sp. ZY022</i> | 37 |
| <i>Acinetobacter sp. phenon 9</i> | 1 |
| <i>Afipia sp. LMG 19832</i> | 14 |
| <i>Alcaligenes sp. STC1</i> | 1 |
| <i>Alcanivorax venustensis</i> | 1 |
| <i>Alicyclophilus denitrificans</i> | 1 |
| <i>Altererythrobacter sp. OB38-2</i> | 3 |
| <i>Amorphus orientalis</i> | 1 |
| <i>Antarctic bacterium R-7614</i> | 9 |
| <i>Arcobacter cibarius</i> | 8 |
| <i>Bacillus sp. 13437</i> | 2 |
| <i>Bacteroidetes bacterium NAB18</i> | 7 |

| | |
|--|-----|
| <i>Bdellovibrio sp. JSF2</i> | 1 |
| <i>Beijerinckia mobilis</i> | 3 |
| <i>Bifidobacterium animalis</i> | 1 |
| <i>Bosea sp. LC086</i> | 1 |
| <i>Bradyrhizobium japonicum</i> | 2 |
| <i>Bradyrhizobium sp. ORS 138</i> | 97 |
| <i>Branchiibius hedensis</i> | 1 |
| <i>Brevundimonas bacteroides</i> | 1 |
| <i>Brevundimonas diminuta</i> | 1 |
| <i>Brevundimonas sp. 3034BRRJ</i> | 1 |
| <i>Brevundimonas sp. BBDP1031</i> | 1 |
| <i>Burkholderia sp. NCPPB3025</i> | 1 |
| <i>Buttiauxella agrestis</i> | 3 |
| <i>Candidatus Amoebophilus asiaticus</i> | 23 |
| <i>Candidatus Chryseobacterium massiliae</i> | 4 |
| <i>Caulobacter sp. FWC14</i> | 1 |
| <i>Chelatococcus asaccharovorans</i> | 6 |
| <i>Chitinophaga sp. THG-DT86</i> | 2 |
| <i>Chitinophaga sp. WW1(2011)</i> | 68 |
| <i>Chloroflexi bacterium ET1</i> | 1 |
| <i>Chryseobacterium defluvii</i> | 3 |
| <i>Chryseobacterium molle</i> | 1 |
| <i>Chryseobacterium pallidum</i> | 626 |
| <i>Chryseobacterium stagni</i> | 1 |
| <i>Chryseobacterium taeanense</i> | 11 |
| <i>Citrobacter koseri</i> | 1 |
| <i>Cloacibacterium normanense</i> | 1 |
| <i>Clostridium carboxidivorans</i> | 6 |
| <i>Clostridium leptum</i> | 1 |
| <i>Clostridium psychrophilum</i> | 10 |
| <i>Clostridium sp. 6-44</i> | 139 |

| | |
|---|------|
| <i>Clostridium sp. KOPRI80152</i> | 1 |
| <i>Clostridium sp. P530(1)</i> | 4 |
| <i>Clostridium tyrobutyricum</i> | 2 |
| <i>Comamonas aquatica</i> | 1 |
| <i>Comamonas koreensis</i> | 1 |
| <i>Comamonas sp. MBIC3885</i> | 13 |
| <i>Comamonas sp. PJ111</i> | 3 |
| <i>Comamonas sp. RPWA5.3</i> | 1 |
| <i>Comamonas sp. TZ1</i> | 2 |
| <i>Comamonas testosteroni</i> | 8895 |
| <i>Corynebacterium tuberculostearicum</i> | 5 |
| <i>Desulfobulbus elongatus</i> | 2 |
| <i>Desulfosporosinus acidiphilus</i> | 1 |
| <i>Devosia insulae</i> | 1 |
| <i>Dokdonella fugitiva</i> | 3 |
| <i>Dokdonella kunshanensis</i> | 6 |
| <i>Dyella ginsengisoli</i> | 2 |
| <i>Empedobacter sp. FM-1</i> | 1 |
| <i>Enhydrobacter aerosaccus</i> | 2 |
| <i>Enterobacter asburiae</i> | 2 |
| <i>Enterobacter sp. LMG 5337</i> | 1 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 12 |
| <i>Erwinia sp. THG-CT23</i> | 7 |
| <i>Flavobacterium lindanitolerans</i> | 429 |
| <i>Flavobacterium sp. PNS BS-1</i> | 2 |
| <i>Frigoribacterium aff. faeni A-1/C-an/E</i> | 1 |
| <i>Gaiella occulta</i> | 1 |
| <i>Gordonia sihwensis</i> | 2 |
| <i>Hydrocarboniphaga effusa</i> | 5 |
| <i>Janthinobacterium lividum</i> | 3 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1 |

| | |
|---|-----|
| <i>Klebsiella sp. HaMC2</i> | 2 |
| <i>Klebsiella sp. P4</i> | 2 |
| <i>Legionella pneumophila</i> | 4 |
| <i>Lentzea albida</i> | 123 |
| <i>Leptothrix sp. L10</i> | 2 |
| <i>Longilinea arvoryzae</i> | 6 |
| <i>Luteimonas sp. XBU10</i> | 2 |
| <i>Lysobacter ximonensis</i> | 153 |
| <i>Macelibacteroides fermentans</i> | 5 |
| <i>Maihuenia poeppigii</i> | 1 |
| <i>Mesorhizobium plurifarum</i> | 54 |
| <i>Mesorhizobium sp. ORS 1080</i> | 1 |
| <i>Methylobacterium mesophilicum</i> | 1 |
| <i>Methylosinus trichosporium</i> | 8 |
| <i>Microbacteriaceae bacterium Tibet-IT11</i> | 1 |
| <i>Mycobacterium gordonae</i> | 1 |
| <i>Mycobacterium sp. FSD4b-SM</i> | 15 |
| <i>Mycobacterium sp. GN-9188</i> | 2 |
| <i>Niabella sp. ICM 1-15</i> | 4 |
| <i>Novosphingobium sp. MG36</i> | 5 |
| <i>Paenibacillus sp. AG430</i> | 1 |
| <i>Parabacteroides goldsteinii</i> | 2 |
| <i>Pelomonas puraquae</i> | 2 |
| <i>Pelomonas sp. On15</i> | 4 |
| <i>Phenylobacterium koreense</i> | 2 |
| <i>Planctomyces sp. Io1-3</i> | 2 |
| <i>Pseudaminobacter salicylatoxidans</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 16 |
| <i>Pseudomonas alcaliphila</i> | 6 |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 1 |

| | |
|---|----|
| <i>Pseudomonas geniculata</i> | 76 |
| <i>Pseudomonas kilonensis</i> | 16 |
| <i>Pseudomonas orientalis</i> | 9 |
| <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> | 17 |
| <i>Pseudomonas putida</i> | 2 |
| <i>Pseudomonas sp. G1DM-43</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. GLE121</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. GmFRB092</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. IrT-R5M2-58</i> | 12 |
| <i>Pseudomonas sp. L14</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. L37</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. PYD-2</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. SSKSD18</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas sp. W13</i> | 12 |
| <i>Pseudomonas sp. dye3</i> | 3 |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i> | 14 |
| <i>Pseudomonas syringae</i> | 18 |
| <i>Pseudomonas syringae group genomosp. 7</i> | 10 |
| <i>Ralstonia sp. CB</i> | 7 |
| <i>Ralstonia sp. PHD-2</i> | 5 |
| <i>Rhizobium indigoferae</i> | 13 |
| <i>Rhizobium sp. R-31762</i> | 2 |
| <i>Rhodanobacter lindaniclasticus</i> | 28 |
| <i>Rhodoblastus sphagnicola</i> | 1 |
| <i>Rhodococcus sp. SRB1948-A07</i> | 1 |
| <i>Sedimentibacter hydroxybenzoicus</i> | 1 |
| <i>Segniliparus rugosus</i> | 1 |
| <i>Serratia grimesii</i> | 1 |
| <i>Shinella sp. DR33</i> | 6 |
| <i>Spartobacteria bacterium Gsoil 144</i> | 1 |

| | |
|---|-----|
| <i>Sphaerotilus sp. L19</i> | 1 |
| <i>Sphingobacteriales bacterium LY21</i> | 3 |
| <i>Sphingobacterium faecium</i> | 1 |
| <i>Sphingobacterium sp. HaLB8</i> | 19 |
| <i>Sphingobium jiangsuense</i> | 1 |
| <i>Sphingomonas asaccharolytica</i> | 1 |
| <i>Sphingomonas leidyi</i> | 244 |
| <i>Sphingomonas sp.</i> | 1 |
| <i>Sphingomonas sp. DS3-1</i> | 51 |
| <i>Sphingomonas sp. H38(2010)</i> | 2 |
| <i>Sphingomonas sp. JEM-14</i> | 20 |
| <i>Sphingomonas sp. MD-1</i> | 33 |
| <i>Sphingomonas sp. SOZ1-3091</i> | 1 |
| <i>Staphylococcus caprae</i> | 4 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 2 |
| <i>Staphylococcus lugdunensis</i> | 2 |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 1 |
| <i>Stenotrophomonas sp. F6(2011)</i> | 1 |
| <i>Stenotrophomonas sp. J54C22</i> | 1 |
| <i>Stenotrophomonas sp. LMG 19833</i> | 112 |
| <i>Stenotrophomonas sp. enrichment culture clone U-co-culture-1</i> | 1 |
| <i>Streptococcus equinus</i> | 1 |
| <i>Streptomyces galilaeus</i> | 1 |
| <i>Subdoligranulum sp. 4_3_54A2FAA</i> | 1 |
| <i>Terrahaemophilus aromaticivorans</i> | 2 |
| <i>Terrimonas pekingensis</i> | 1 |
| <i>Thermomonas haemolytica</i> | 120 |
| <i>Thiobacillus thioparus</i> | 17 |
| <i>Trichotomospora caesia</i> | 10 |
| <i>Tsukamurella sp. PW899</i> | 1 |

| | |
|--|-----|
| <i>Variovorax paradoxus</i> | 3 |
| <i>Variovorax</i> sp. WFF52 | 4 |
| <i>Variovorax</i> sp. WPCB174 | 1 |
| <i>Xanthomonas axonopodis</i> | 2 |
| <i>Zoogloea resiniphila</i> | 15 |
| [<i>Pseudomonas</i>] <i>cissicola</i> | 153 |
| <i>alpha proteobacterium</i> Gsoil 257 | 1 |
| <i>alpha proteobacterium</i> HTA333 | 218 |
| <i>alpha proteobacterium</i> HTA473 | 74 |
| <i>alpha proteobacterium</i> K6-28 | 5 |
| <i>alpha proteobacterium</i> KC-IT-F2 | 1 |
| <i>alpha proteobacterium</i> KC-IT-F6 | 3 |
| <i>alpha proteobacterium</i> endosymbiont 2 of <i>Inanidrilus leukodermatus</i> | 1 |
| <i>bacterium</i> 14A3 | 2 |
| <i>bacterium</i> 14W123 | 1 |
| <i>bacterium</i> 14W432 | 1 |
| <i>bacterium</i> 28S233 | 13 |
| <i>bacterium</i> 28S514 | 1 |
| <i>bacterium</i> AK-MB12 | 2 |
| <i>bacterium</i> DC22(2011) | 19 |
| <i>bacterium</i> RS12A | 202 |
| <i>bacterium</i> enrichment culture clone HQ-A | 1 |
| <i>bacterium</i> rJ11 | 1 |
| <i>bacterium</i> rJ14 | 5 |
| <i>bacterium</i> str. 51885 | 2 |
| <i>beta proteobacterium</i> HTC018 | 38 |
| endosymbiont of <i>Acanthamoeba</i> sp. UWET39 | 1 |
| endosymbiont of <i>Sphenophorus levis</i> | 49 |
| estrogen-degrading <i>bacterium</i> KC2 | 23 |

| | |
|---|------|
| <i>gamma proteobacterium HTA580</i> | 26 |
| <i>gamma proteobacterium W1.09-152</i> | 2 |
| <i>iron-reducing bacterium enrichment culture clone HN104</i> | 9641 |
| <i>proteobacterium symbiont of Nilaparvata lugens</i> | 11 |
| <i>rape rhizosphere bacterium cse024</i> | 1 |
| <i>soil DNB bacterium G14109</i> | 110 |
| <i>uncultured Acidobacteria bacterium</i> | 3 |
| <i>uncultured Acidovorax sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Acinetobacter sp.</i> | 9 |
| <i>uncultured Bacteroidetes bacterium</i> | 9 |
| <i>uncultured Bradyrhizobium sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Candidatus Saccharibacteria bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured Chloroflexi bacterium</i> | 158 |
| <i>uncultured Clostridia bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured Clostridiales bacterium</i> | 6 |
| <i>uncultured Comamonadaceae bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured Comamonas sp.</i> | 7 |
| <i>uncultured Deinococci bacterium</i> | 29 |
| <i>uncultured Dokdonella sp.</i> | 184 |
| <i>uncultured Gemmatimonas sp.</i> | 7 |
| <i>uncultured Limnobacter sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Mesorhizobium sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Microbacterium sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Pseudomonadales bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured Pseudomonas sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Ralstonia sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Saprospiraceae bacterium</i> | 5 |
| <i>uncultured Sphingobacteriales bacterium</i> | 1 |

| | |
|---|------|
| <i>uncultured Stenotrophomonas sp.</i> | 1 |
| <i>uncultured Verrucomicrobia subdivision</i> | |
| <i>3 bacterium</i> | 3 |
| <i>uncultured Xanthomonadaceae</i> | |
| <i>bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured Zoogloea sp.</i> | 74 |
| <i>uncultured actinobacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured alpha proteobacterium</i> | 53 |
| <i>uncultured anaerobic bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured bacterium</i> | 3060 |
| <i>uncultured bacterium SBRH63</i> | 4 |
| <i>uncultured bacterium SJA-108</i> | 2 |
| <i>uncultured bacterium mle1-12</i> | 2 |
| <i>uncultured beta proteobacterium</i> | 2 |
| <i>uncultured beta proteobacterium</i> | |
| <i>HF0010_04H24</i> | 5 |
| <i>uncultured epsilon proteobacterium</i> | |
| <i>1014</i> | 2 |
| <i>uncultured epsilon proteobacterium</i> | |
| <i>1065</i> | 10 |
| <i>uncultured eubacterium WCHB1-80</i> | 3 |
| <i>uncultured forest soil bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured gamma proteobacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured marine bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured organism</i> | 1 |
| <i>uncultured sludge bacterium</i> | 1 |
| <i>uncultured soil bacterium</i> | 49 |
| <i>unidentified</i> | 2 |
| <i>unidentified Cytophagales/green sulfur</i> | |
| <i>bacterium OPB56</i> | 9 |
| <i>unidentified actinobacterium d13</i> | 46 |