

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICROBIANA ANAERÓBIA  
SUBMETIDA A SUBSTRATOS PREFERENCIAIS**

**Giulian Sartor Sganzerla**

**Orientador: Wanderli Rogério Moreira Leite**

**2013/2**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E  
AMBIENTAL

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICROBIANA ANAERÓBIA  
SUBMETIDA A SUBSTRATOS PREFERÊNCIAS**

Giulian Sartor Sganzerla

Trabalho submetido à Banca  
Examinadora como parte dos  
requisitos para Conclusão do Curso  
de Graduação em Engenharia  
Sanitária e Ambiental – TCC II.  
Orientador: Eng<sup>o</sup>Wanderli Rogério  
Moreira Leite, Msc.

FLORIANÓPOLIS, (SC)  
NOVEMBRO/2013



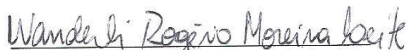
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E  
AMBIENTAL

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICROBIANA ANAERÓBIA  
SUBMETIDA A SUBSTRATOS PREFERENCIAIS**

Giulian Sartor Sganzerla

Trabalho submetido à Banca  
Examinadora como parte dos  
requisitos para Conclusão do Curso  
de Graduação em Engenharia  
Sanitária e Ambiental – TCC II.

BANCA EXAMINADORA:

  
Engº Wanderli Rogério Moreira Leite, Ms.  
(Orientador)

  
Prof. Paulo Belli Filho, Dr.  
(Membro da Banca)

  
Prof. Elivete Carmem Clemente Prim, Dr.  
(Membro da Banca)

FLORIANÓPOLIS, (SC)  
NOVEMBRO/2013



Dedico este trabalho a Deus e a toda  
minha família.





## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador Wanderli pelos ensinamentos, pela paciência e amizade nesta caminhada.

A toda equipe do LABEFLU.

A Bruna pelo auxílio em laboratório durante o período de análises.

A Mariana Ecco pelo auxílio disponibilizado neste trabalho.

Aos membros da banca Paulo Belli e Elivete Prim pela disponibilidade e atenção a este trabalho.

A todos os meus amigos, que sempre estiveram presentes em minha vida.

A minha família, por estarem sempre ao meu lado me apoiando.

A Deus, fonte de luz inesgotável.



## RESUMO

O tratamento de esgotos consiste na remoção de poluentes por intermédio de diversos mecanismos para que o efluente gerado possa retornar ao meio sem degradação ambiental. O processo biológico anaeróbico pode ser utilizado no tratamento dos esgotos e de lodos de estação de tratamento dos esgotos em virtude de suas vantagens que incluem a produção do biogás resultante da atividade biológica dos microrganismos presentes neste sistema. Este trabalho buscou avaliar a atividade destes microrganismos acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos quando submetidos a diferentes substratos preferenciais, com o intuito de identificar a produção de biogás e a eficiência do processo biológico, por intermédio de monitoramento da produção de gás metano e por análise laboratorial de DQO e ácidos orgânicos voláteis.

A pesquisa foi desenvolvida em um sistema experimental de bancada em batelada, operado com temperatura mesofílica (35°C), tendo o inóculo oriundo da ETE da Lagoa da Conceição de Florianópolis, seguindo como roteiro o teste de avaliação específica de microrganismos.

O reator acidogênico apresentou a maior velocidade de remoção de carga orgânica aplicada com valor médio de 65,48 mgO<sub>2</sub>/L.h., os microrganismos apresentam tempo de resposta efetiva do sistema de doze dias para a produção de metano, os reatores metanogênicos, apresentaram maiores valores médios de produção de metano acumulado (241,6 mL) seguidos de acetogênicos (215,92 mL) e acidogênicos (142,05 mL) e as velocidades específicas máximas de produção de metano foi de 1,47CH<sub>4</sub>/gSSV pelos acidogênicos e de 0,30 mL CH<sub>4</sub>/gSSV.d pelos acetogênicos e metanogênicos.

**PALAVRAS CHAVE:** Lodo de ETE, digestão anaeróbia, gás metano, metabolismo anaeróbico, atividade microbiana.



## ABSTRACT

The handling of sewers consists of the removal of pollutants through diverse mechanisms for a secure return of the effluent to the environment without environmental degradation. The anaerobic biological process can be used in the treatment of sewage and sludge from sewage treatment plant in virtue of its advantages that include the production of biogas resulting from the biological activity of the microorganisms. This study aimed to evaluate the activity of these microorganisms, acidogenics, acetogenics and methanogenics, when submitted to different substrates preferred, with the aim of identifying the kinetics of biogas production and the efficiency of the biological process, through monitoring the production of methane gas, biochemical oxygen demand and volatile organic acids.

The research was developed in an experimental system, operated with mesophyllic temperature (35°C), having the inoculum coming from Lagoa da Conceição at Florianópolis, following the way of the test of specific evaluation of microorganisms.

The acidogenic reactor presented the highest speed of removal of organic load applied with a mean value of 65.48 mgO<sub>2</sub>/L.h, the microorganisms present effective response time in the system of twelve days for the production of methane, the methanogenic reactors, showed higher mean values of production of methane accumulated (241,6 mL) followed by acetogenics (215,92 mL) and acidogenics (142,05 mL) and the specific maximal speeds production of methane were of 1,47CH<sub>4</sub>/gSSV by acidogenics and 0,30 mL CH<sub>4</sub>/gSSV.d by acetogenics and methanogenics.

**KEYWORDS:** Sewage sludge, anaerobic digestion, methane, anaerobic metabolism, microbial activity.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Rotas Metabólicas Anaeróbias .....	33
Figura 2 - Formação do metano a partir do acetato (esquerda) e do dióxido de carbono (direita). .....	37
Figura 3 - Utilização de nitrogênio comprimido para purga do oxigênio. ....	45
Figura 4 - Esquema do sistema experimental em escala de bancada. ...	47
Figura 5 - Adaptação dos frascos reatores para coleta da amostra. ....	48
Figura 6 - Utilização de material cirúrgico para coleta da amostra. ....	48
Figura 7 - -- Tubos Eppendorf com amostras (a); centrifuga utilizada (b). ....	49
Figura 8 - Produção de gás metano nos reatores acidogênicos. ....	53
Figura 9 - Destaque de produção de metano nas cinco primeiras horas. ....	54
Figura 10 - Velocidade máxima da produção de metano nos acidogênicos. ....	54
Figura 11 - Produção de gás metano médio nos reatores acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos. ....	55
Figura 12 - Variação da DQO nos reatores acidogênicos ao longo do tempo. ....	56
Figura 13 - Produção de AOV ao longo do tempo. ....	57
Figura 14 - Produção de gás metano nos reatores acetogênicos. ....	58
Figura 15 - Velocidade máxima da produção de metano nos acetogênicos. ....	59
Figura 16 - Variação da DQO nos reatores acetogênicos ao longo do tempo. ....	60
Figura 17 - Produção de gás metano nos metanogênicos. ....	62
Figura 18 - Velocidade de produção de metano nos metanogênicos. ....	63
Figura 19 - Variação da concentração da DQO nos reatores metanogênicos ao longo do tempo. ....	64

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Degradação de substratos na fase acetogênica.....	36
Tabela 2 – Procedimentos Analíticos para caracterização do inóculo. .	41
Tabela 3 – Caracterização do inóculo da atividade microbiana.....	43
Tabela 4 – Soluções de micro e macro nutrientes.....	45
Tabela 5 – Soluções de meio redutor.....	46
Tabela 6 – Montagem dos reatores.....	52



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/M – Relação Alimento/Microrganismo  
AOV – Ácidos Orgânicos Voláteis  
B1 – Reator branco 1  
B2 – Reator branco 2  
B3 – Reator branco 3  
CASAN – Companhia Catarinense de Águas e Saneamento  
CH<sub>4</sub> – Gás metano  
CNTP – Condições normais de temperatura e pressão  
CO<sub>2</sub> – Gás carbônico  
D1 – Reator acidogênico 1  
D2 – Reator acidogênico 2  
D3 – Reator acidogênico 3  
DQO – Demanda química de oxigênio  
ENS – Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental  
ETE – Estação de tratamento de esgotos  
FAPESC – Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina  
H<sub>2</sub> – Íon molecular do hidrogênio  
K – Temperatura em Kelvin  
LABEFLU – Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos  
LIMA – Laboratório Integrado de Meio Ambiente  
M1 – Reator metanogênico 1  
M2 – Reator metanogênico 2  
M3 – Reator metanogênico 3  
NaOH – Hidróxido de sódio  
pH – Potencial hidrogeniônico  
ST – Sólidos totais  
STF – Sólidos totais fixos  
STV – Sólidos totais voláteis  
T1 – Reator acetogênico 1  
T2 – Reator acetogênico 2  
T3 – Reator acetogênico 3  
UASB – Uplflow anaerobic sludge blanket  
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	23
2 OBJETIVOS .....	26
2.1 Objetivo Geral .....	26
2.2 Objetivos Específicos .....	26
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	28
3.1. Lodo de Estação de Tratamento de Esgotos .....	28
3.2. Processos Anaeróbios de Tratamento Aplicados ao Saneamento .....	28
3.2.1. Digestores Anaeróbios .....	28
3.2.2. Digestor anaeróbio de baixa carga .....	28
3.2.3. Sistemas de um estágio e baixa carga .....	29
3.2.4. Digestor anaeróbio de alta carga .....	29
3.2.5. Sistemas de dois estágios e alta carga .....	29
3.2.6. Sistemas em Batelada .....	29
3.2.7. Lagoa Anaeróbia .....	30
3.2.8. Filtros Anaeróbios .....	30
3.2.9. Reator do Tipo UASB .....	31
3.3. Biogás .....	31
3.4. Digestão Anaeróbia .....	31
3.4.1. Fundamentos da Digestão Anaeróbia .....	31
3.4.2. Hidrólise .....	33
3.4.3. Acidogênese .....	34
3.4.4. Acetogênese .....	35
3.4.5. Metanogênese .....	36
3.5. Avaliação da Atividade Microbiana Anaeróbia .....	38
4 METODOLOGIA .....	40
4.1. Origem e caracterização do inóculo .....	40
4.1.1 DQO .....	41
4.1.2. Sólidos Voláteis .....	41
4.1.3. Alcalinidade .....	42
4.1.4. Ácidos Orgânicos Voláteis .....	42
4.2. Montagem dos reatores .....	43
4.2.1. Volume de inóculo .....	43
4.2.2. Seleção e volume de substratos preferências adicionados em cada frasco reator .....	43
4.2.2.1. Glicose .....	44
4.2.2.2. Ácidos Butírico e Propiônico .....	44
4.2.2.3. Ácido Acético .....	44

4.2.3. Seleção e volume de nutrientes e meio redutor adicionados em cada frasco reator .....	45
4.3. Consumo de Material Orgânico .....	47
4.4. Gás Metano .....	49
4.5. Determinação da velocidade máxima de produção de metano ..	50
4.6. Determinação da velocidade de degradação da matéria orgânica .....	50
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	52
5.1. Montagem dos Reatores .....	52
5.2. Reatores Acidogênicos.....	52
5.3. Reatores Acetogênicos .....	57
5.4. Reatores Metanogênicos .....	61
6 CONCLUSÕES.....	66
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	68
8 APÊNDICE .....	74



## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento de efluentes tem por objetivo a redução do potencial poluidor dos esgotos, antes de retorná-los ao ambiente. O lodo (subproduto geralmente na forma líquida ou semi-sólida) processo do tratamento, demanda um gerenciamento adequado para atender as políticas ambientais, principalmente com relação a sua estabilização e disposição final.

São considerados como processos biológicos de tratamento de esgotos aqueles que dependem da ação de microrganismos presentes nos efluentes. Esta ação pode ser mais bem mensurada por técnicas laboratoriais controladas que submetem os microrganismos ou biomassa em contato com o substrato ou resíduo, avaliando-se assim o seu metabolismo. A medida da atividade dos microrganismos pode contribuir no entendimento da dinâmica de conversão do substrato em produto e um aprofundamento na interpretação das rotas do metabolismo dos microrganismos existentes na biomassa avaliada (ANGELIDAKI et al. 2009).

Diversos são os métodos propostos para os ensaios de atividade anaeróbia de microrganismos, mas em geral todos simulam o processo biológico anaeróbio em frascos reatores em escala laboratorial. Embora a pesquisa científica pratique com maior frequência a busca da atividade de microrganismos metanogênicos, o entendimento cinético das etapas anteriores, isto é hidrólise, acidogênese e acetogênese são de grande interesse para o controle do processo biológico (ANGELIDAKI et al., 2009). A medição do gás metano produzido pelos microrganismos é apenas uma das etapas de avaliação do sistema metabólico; a verificação da produção de ácidos orgânicos voláteis (AOV) e o monitoramento da demanda química de oxigênio (DQO) são necessários para analisar efetivamente o comportamento microbiológico.

Inserido nesse contexto e com o intuito de compreender a atividade microbiológica diante do substrato preferencial adicionado em cada reator, o tema proposto pelo trabalho têm sua origem a partir do desenvolvimento de uma tese de doutorado, realizada no LABEFLU, Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos vinculado ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina. A abordagem se insere mais especificamente na microbiologia por intermédio da análise da atividade de três grupos de microrganismos anaeróbios, acidogênicos acetogênicos e

metanogênicos, com a finalidade de avaliar a velocidade de produção de biogás no inóculo, quando submetido a diferentes substratos.

A biomassa coletada em uma célula de reator UASB, da unidade de tratamento de esgotos da CASAN, localizada na Lagoa da Conceição será submetida a ensaios laboratoriais em reatores em escala de bancada, com a adição de substratos específicos em cada um deles. A partir dos resultados obtidos, pode-se determinar e comparar a eficiência de remoção da carga orgânica aplicada e mensurar o volume e o tempo necessário para a produção de metano.



## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Este trabalho tem como objetivo geral avaliar a atividade dos microrganismos acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos quando submetidos a diferentes substratos preferenciais, a fim de identificar se haverá alteração na produção de biogás e na eficiência do processo biológico.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar a velocidade de produção de biogás do inóculo anaeróbico, quando submetido a diferentes substratos orgânicos.
- Determinar e comparar a eficiência de remoção de carga orgânica aplicada, em cada condição experimental.





## **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **3.1. Lodo de Estação de Tratamento de Esgotos**

Os sistemas de tratamento de esgotos geram um subproduto, sólido e semissólido denominado lodo de esgoto. Esse necessita ser devidamente gerido para destinação final segura em termos de saúde pública e ambiente (ANDREOLI, 2001).

Durante os processos de tratamento, diversos componentes do esgoto concentram-se no lodo, como matéria orgânica, nutrientes, metais pesados e microrganismos patogênicos (SILVA, 2009).

Segundo Metcalf e Eddy (2003) conhecer as características dos sólidos presentes nos esgotos é de fundamental importância para se obter elevado desempenho no tratamento e disposição final do lodo.

Cassini et al. (2003) afirmam que em média 99% dos esgotos são formados de água e apenas 1% de sólidos orgânicos.

A quantidade de lodo produzido, de acordo com Von Sperling et al. (2001) representa 1 a 2% de todo volume de esgoto tratado. Apesar disso, economicamente a gestão do lodo em estações de tratamento pode chegar à metade dos custos operacionais (TURONSKIY; MATHAI, 2006).

### **3.2. Processos Anaeróbios de Tratamento Aplicados ao Saneamento**

#### **3.2.1. Digestores Anaeróbios**

Os digestores são utilizados principalmente para estabilização de lodos e para o tratamento de efluentes industriais, com elevada concentração de sólidos suspensos (CHERNICHARO, 2007).

#### **3.2.2. Digestor anaeróbio de baixa carga**

O processamento ocorre com cargas aplicadas menores ou iguais a 1,2 kgSSV/m<sup>3</sup>.d. O tempo de detenção hidráulico varia entre 30 e 45 dias (JORDÃO; PESSOA, 2005).

Faz-se necessário a remoção frequente do sobrenadante e do lodo já estabilizado.

Os reatores de baixa carga devem apresentar grandes volumes para satisfatória estabilização do lodo, devido à estratificação do mesmo

e a ausência de mistura que diminuem o volume do digestor utilizado no processo de digestão (CHERNICHARO 1997).

### **3.2.3. Sistemas de um estágio e baixa carga**

Os digestores de um estágio e baixa carga são constituídos de um único tanque, sem mecanismos de mistura. A digestão compreendida pela acidogênese, acetogênese, metanogênese, assim como adensamento do lodo e formação do sobrenadante ocorre de maneira simultânea (CHERNICHARO, 2007).

### **3.2.4. Digestor anaeróbio de alta carga**

Nos digestores de alta carga o controle da temperatura ideal e um eficiente sistema de mistura influenciam diretamente o desempenho do digestor. (METCALF; EDDY, 2003).

Segundo Cassini et al. (2003) estes digestores são operados com alimentação contínua pela adição de lodo em determinados períodos e em quantidades extremamente precisas. É possível manter a uniformidade do sistema, pelo fato do lodo ser previamente adensado.

Segundo Nuvolari (2003), muitos digestores de alta carga apresentam saída de sobrenadante, que efetiva a recirculação para o tratamento biológico.

### **3.2.5. Sistemas de dois estágios e alta carga**

De acordo com Moraes (2005) os digestores de dois estágios diferenciam-se dos demais pela adição de um tanque de digestão operando de maneira contínua com o digestor primário. Na primeira etapa do processo que corresponde ao digestor primário ocorre a homogeneização do lodo por intermédio de aquecimento e mistura. Na segunda etapa, correspondente ao tanque de digestão, ocorre remoção tanto do sobrenadante quanto do lodo já digerido.

A temperatura é o principal fator no bom funcionamento do sistema, pois a taxa de crescimento da massa biológica e a estabilização de sólidos sofrem grande influência por este parâmetro (NUVOLARI, 2003).

### **3.2.6. Sistemas em Batelada**

A utilização de sistemas em batelada, para obtenção de biogás, tem sido altamente difundida devido ao bom desempenho atingido. O alcance de bons resultados está diretamente ligado com a operação do sistema em altas temperaturas e pela dispersão dos nutrientes e do inóculo pela recirculação. (VANDEVIVERE et al., 2002 apud CASSINI et al., 2003).

Nestes sistemas ocorre preenchimento de resíduos frescos, com ou sem inóculo, passando por todas as etapas de degradação anaeróbia. Terminado o período de tratamento, os resíduos são retirados e inicia-se novo ciclo de batelada (CASSINI et al., 2003).

### **3.2.7. Lagoa Anaeróbia**

Segundo Lessa (2005), as lagoas anaeróbias são consideradas reatores de baixas cargas orgânicas e se utilizadas em conjunto com outros sistemas apresentam, em média, metade da demanda bioquímica de oxigênio estabilizada (DBO). Ainda de acordo com o autor possuem grande profundidade (4,5m) e baixa área superficial, ideias quando se dispõe de reduzida área.

O tempo de detenção hidráulica varia de 3 a 6 dias e por não existir oxigênio dissolvido em seu meio líquido a matéria orgânica presente é digerida de maneira anaeróbia. (VON SPERLING, 1996).

De acordo com Netto (1975) estes tipos de lagoas se caracterizam pela alta carga de remoção de DBO por unidade de volume, porém o efluente apresenta baixo padrão de qualidade, devendo ser submetido por outro processo para remoção de carga remanescente.

### **3.2.8. Filtros Anaeróbios**

Os filtros anaeróbios consistem basicamente em reatores biológicos com uma coluna de fluxo ascendente ou descendente, através do lodo aderido, preenchida por meios suportes sólidos utilizados para o tratamento de efluentes. O efluente ao entrar em contato com as bactérias anaeróbias fixadas tem a matéria orgânica degradada (METCALF; EDDY, 2003).

O alto custo do material de enchimento juntamente com os problemas de natureza operacional como colmatção do leito de material suporte tem contra indicado este tipo de reator para o uso em tratamentos de esgotos como unidade principal (JORDÃO; PESSOA, 2005).

### **3.2.9. Reator do Tipo UASB**

O reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo consiste em um fluxo de esgotos introduzidos na parte inferior através de um leito de lodo denso, com elevada atividade. Acima do leito de lodo, encontra-se a manta de lodo que consiste em uma zona de crescimento bacteriano. A estabilização da matéria orgânica ocorre em todas as zonas de reação (CHERNICHARO, 2007).

### **3.3. Biogás**

O biogás resulta do processo de fermentação anaeróbia da matéria orgânica em adequadas condições de umidade, pH e temperatura (MARTINS; ASSIS, 2007).

Seus principais componentes são os gases metano e carbônico, em proporções obtidas segundo Belli Filho (1995) respectivamente 63% e 22%, outros componentes também participam, como nitrogênio, sulfeto de hidrogênio e oxigênio.

De acordo com Zago (2003) a quantidade de biogás gerada através da biodigestão é dada em função do tipo de material fermentado e das condições do ambiente.

A geração de gás metano, principal constituinte do biogás, ocorre principalmente diante dos processos de degradação de ácidos graxos voláteis e da conversão de ácido acético (BELLI FILHO, 1995).

A utilização de biogás como fonte de energia renovável reduz os danos ambientais, agregando valor ao processo anaeróbio, principalmente quando destinado à geração de energia elétrica (PECORA et al., 2006).

### **3.4. Digestão Anaeróbia**

#### **3.4.1. Fundamentos da Digestão Anaeróbia**

A digestão anaeróbia caracteriza-se por ser um processo de oxidação da matéria orgânica, resultando na produção de metano e dióxido de carbono. Nesta forma de digestão ocorrem dois tipos de processos metabólicos: a fermentação e a respiração. Estes processos metabólicos complexos ocorrem em etapas sequenciais e dependem de, no mínimo, três grupos fisiológicos de microrganismos: bactérias fermentativas, ou acidogênicas; bactérias sintróficas, ou acetogênicas; e microrganismos metanogênicos (CHERNICHARO, 2007).

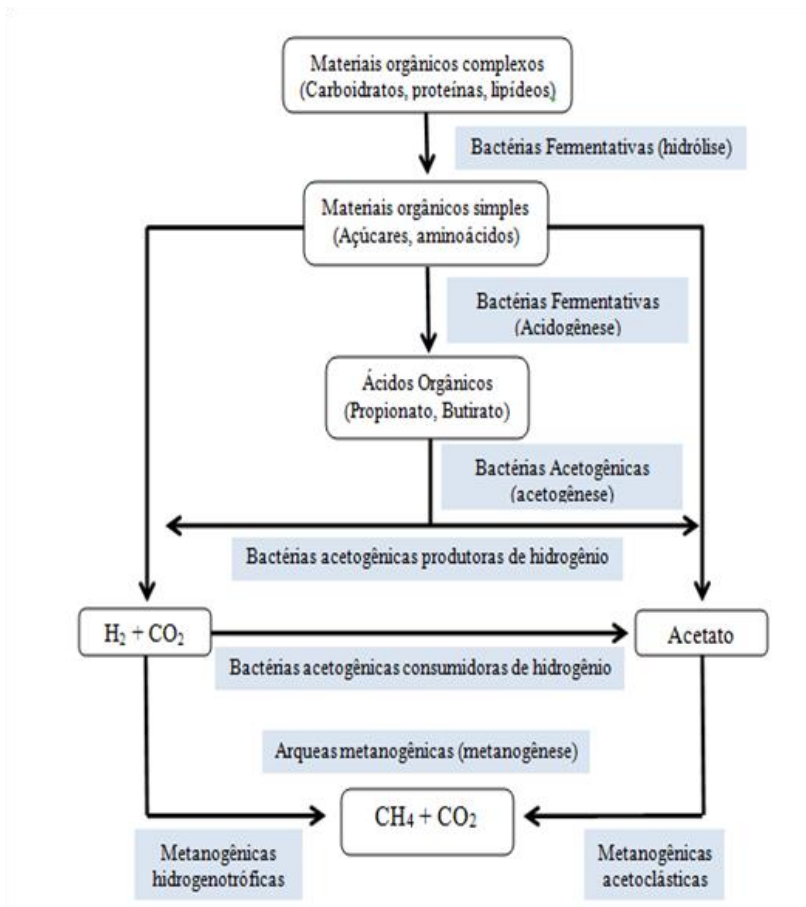
Os microorganismos anaeróbios rompem compostos orgânicos complexos, incorporando nutrientes e energia suficientes para seu desenvolvimento e reprodução. (CEE, 2000)

Dos variados grupos microbianos envolvidos no processo de digestão anaeróbia, Zago (2003) afirma:

*“Os organismos da biodigestão anaeróbia apresentam um elevado grau de especialização metabólica. A eficiência do processo anaeróbio depende, portanto, das interações positivas entre as diversas espécies bacterianas com diferentes capacidades degradativas. Os intermediários metabólicos de um grupo de bactérias podem servir como nutrientes ao crescimento de outras espécies.”*

De acordo com Alves (1998), diversas etapas sequenciais ocorrem até o processo final de metanogênese, entre eles: hidrólise de proteínas e gorduras em seus respectivos monômeros, fermentação de açúcares, oxidação de ácidos de cadeia longa e de ácidos orgânicos voláteis (AOV) e a conversão de acetato e hidrogênio a metano. Pode ainda ocorrer homoacetogênese, fase que se desenvolve na acetogênese, quando a oxidação de matéria orgânica origina ácido acético, dióxido de carbono e hidrogênio.

A Figura 1 ilustra as rotas metabólicas do processo de digestão anaeróbia.



**Figura 1** - Rotas Metabólicas Anaeróbias

Fonte: Adaptado de Lettinga et al. (1996) apud Chernicharo (1997).

### 3.4.2. Hidrólise

Na primeira etapa as bactérias fermentativas hidrolíticas, processam o material orgânico disponível no meio, em compostos mais simplificados e com menor peso molecular, permitindo sua passagem pela membrana celular das bactérias fermentativas. (SILVA, 2009).

Compostos orgânicos de cadeia longa são rompidos em compostos mais simples, com menor cadeia carbônica, que serão metabolizados na acidogênese (FENG et al., 2008 apud SILVA, 2009).

Segundo Deublein e Steinhauser (2008), a conversão em compostos menos complexos é realizada por exoenzimas hidrolases das próprias bactérias anaeróbias e anaeróbia facultativas.

As proteínas, carboidratos e lipídios são degradados gerando respectivamente: polipeptídios, açúcares, ácidos graxos e glicerol. A velocidade de hidrólise está diretamente relacionada à característica e complexidade de cada subproduto, limitando ou não a anaerobiose completa (ABREU, 2007).

### 3.4.3. Acidogênese

A acidogênese compreende a transformação de compostos orgânicos de alto peso molecular, por intermédio de enzimas intracelulares em compostos mais simples. Os produtos solúveis resultantes da hidrólise são convertidos em ácidos e compostos minerais como hidrogênio, dióxido de carbono, ácidos orgânicos voláteis e alcoóis (METCALF; EDDY, 2003).

Nesta etapa do processo, o material orgânico é oxidado por bactérias anaeróbias obrigatórias e facultativas (SILVA, 2009).

Pela quase totalidade (99%) das bactérias acidogênicas serem anaeróbias estritas, estas possuem proteção ao oxigênio, fator de grande relevância para o processo anaeróbio. (LETTINGA et al., 1996).

Os AOV produzidos na acidogênese são determinantes no processo de anaerobiose, pois suas concentrações em valores excessivos interferem no pH do meio, comprometendo o sistema.(WANG et al., 1999).

Angelidaki et al. (2009) recomendam a realização de experimentos para determinação de AOV, com intuito de avaliar a atividade acidogênica, juntamente com a produção de ácido acético.

Segundo Agnelli (2010) os compostos produzidos nesta fase são: ácidos propiônico, butírico e acético entre outros elementos.. *Clostridium sp. e Bacterods sp.*, são as principais bactérias responsáveis pela acidogênese. A primeira produz esporos que permitem sua sobrevivência e as segundas participam da degradação de açúcares e aminoácidos.

De acordo com Aquino e Chernicharo (2005) devido a bactérias acidogênicas apresentarem elevadas taxas de crescimento, pode ocorrer disfunção do processo caso o composto a ser degradado não apresente fácil hidrólise.

Os substratos a serem degradados nesta etapa do processo convertem-se em ácidos acético, butírico e propiônico. O ácido acético



juntamente com hidrogênio e dióxido de carbono é metabolizado diretamente na fase metanogênica (Zeb et al., 2013).

Mosey 1983 apud Abreu 1998, afirma que as acidogênicas utilizam a glicose, um dos principais substratos, não somente como fonte de energia, mas também como fonte de carbono para o metabolismo de novas células. As equações de conversão da glicose em ácido propiônico e butírico são dados pelas Equações 1 e 2 respectivamente.

Ácido Propiônico:



**Equação 1**

Ácido Butírico:



**Equação 2**

#### 3.4.4. Acetogênese

Os compostos resultantes da fase anterior são utilizados pelas bactérias acetogênicas, produzindo  $\text{H}_2$  em grande escala e consequentemente desencadeando diminuição no pH do meio. Nesta etapa ocorre transformação de hidrogênio em acetato, principal precursor do metano, para a fase metanogênica. (CHERNICHARO, 2007).

Nesta etapa do processo o hidrogênio desempenha um importante papel intermediário na conversão dos ácidos butíricos e propiônicos em ácido acético para a metanogênese (ZEB et al. 2013).

Segundo Deublein e Steinhauser (2008) as bactérias acetogênicas são produtoras obrigatórias de  $\text{H}_2$  e somente ocorre a formação de etilo por intermédio da oxidação de ácidos de cadeia longa com baixa pressão parcial de hidrogênio. De acordo com Craveiro (1986) a baixa da pressão parcial é realizada pelas metanogênicas ao consumirem o hidrogênio do meio.

A Tabela 1 apresenta as reações de conversão dos ácidos metabolizados na acetogênese em acetato.

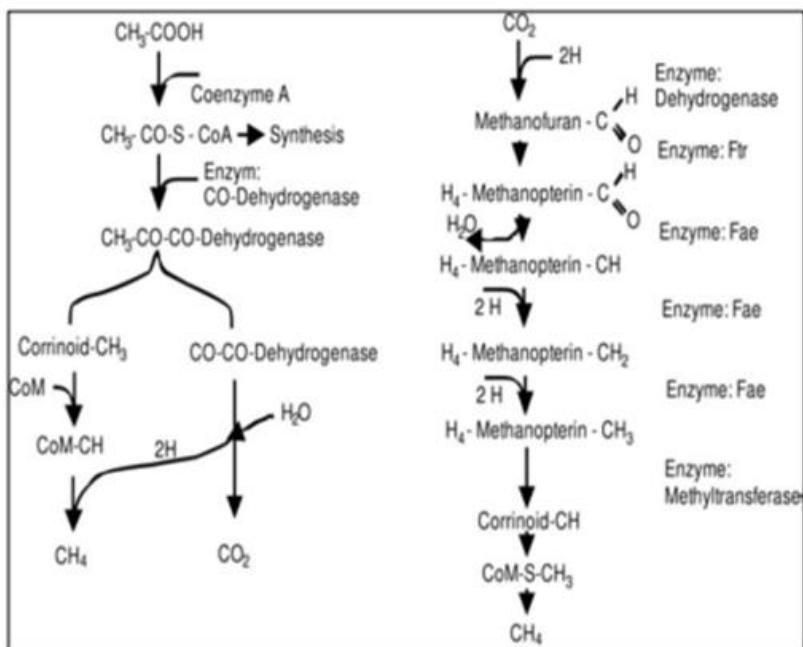
**Tabela 1** - Degradação de substratos na fase acetogênica.

Reações	$\Delta G^\circ$ ( $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ )
Propianato $\rightarrow$ Acetato	
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + \text{HCO}_3^- + 3\text{H}_2$	+76,1
Butirato $\rightarrow$ Acetato	
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+48,1
Benzoato $\rightarrow$ Acetato	
$\text{C}_7\text{H}_5\text{CO}_2^- + 7\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CH}_3\text{COO}^- + 3\text{H}^+ + \text{HCO}_3^- + 3\text{H}_2$	+53,0
Etanol $\rightarrow$ Acetato	
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{H}_2 + \text{H}^+$	+9,6

Fonte: Khanal (2008) apud Leite (2013).

### 3.4.5. Metanogênese

Corresponde à etapa final e mais sensível do processo efetuada por *Archeas* metanogênicas utilizando ácido acético, hidrogênio, dióxido de carbono, ácido fórmico, metanol, metilaminas e monóxido de carbono. (CHERNICHARO, 2007). A Figura 2 apresenta a formação do metano a partir do acetato (esquerda) e do dióxido de carbono (direita).



**Figura 2** - Formação do metano a partir do acetato (esquerda) e do dióxido de carbono (direita).

Fonte: Deublein e Steinhauser (2008).

Nesta etapa da digestão, o processo metabólico é favorecido quando a taxa de degradação das acetogênicas for proporcional à taxa das metanogênicas (GERARDI, 2003).

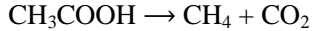
Cassini et al., (2003) afirma que a redução de hidrogênio, garante a produção do acetato de maneira intensiva, assegurando que o processo de metanogênese se desenvolva.

Segundo Demirel e Scherer (2008), existem dois tipos de bactérias metanogênicas: acetoclásticas e hidrogenotróficas.

#### *Metanogênicas Acetoclásticas*

De acordo com Demirel e Scherer (2008) as metanogênicas acetoclásticas são responsáveis pela formação de metano e gás carbônico utilizando o acetato, tendo um pH ideal neutro (6,6 a 7,3). Segundo Nuvolari (2003), representam ainda 60 a 70% de toda a produção de metano.

Gerardi (2003) afirma que as acetoclásticas são fundamentais no controle do pH, fermentando o ácido acético de acordo com a Equação 3.



### Equação 3

#### *Metanogênicas Hidrogenotróficas*

Ao contrário das acetoclásticas, praticamente todas as espécies conhecidas de bactérias metanogênicas são capazes de produzir metano, a partir do hidrogênio e dióxido de carbônico. (CHERNICHARO, 2007). Segundo Gerardi (2003) ao consumirem hidrogênio, regulam o pH em estado ótimo para a própria sobrevivência e garantia da produção de metano.

### **3.5. Avaliação da Atividade Microbiana Anaeróbia**

Segundo Effebi et al. (2011) a conversão da matéria orgânica para a formação de gás metano é realizada a partir de diversas reações bioquímicas, incluindo solubilização de partículas biodegradáveis seguido da acidogênese, acetogênese e metanogênese. Ocorre desta maneira formação de ácidos orgânicos voláteis: butirato e propionato de etila. Esses degradados geram ácido acético que serão consumidos pelas metanogênicas acetoclásticas formando  $\text{CO}_2$  e  $\text{CH}_4$ . Para mensurar em valores as atividades microbianas anaeróbias necessita-se determinar a atividade acidogênica, acetogênica e metanogênica. Ainda segundo o autor a glicose, geralmente, para as acidogênicas é a principal via de oxidação, para as acetogênicas ácidos propionico e butírico e metanogênicas o ácido acético, esse fundamental na cinética do processo pela sua produção e consumo.

A avaliação da cinética dos microrganismos se dá por intermédio da análise de sólidos solúveis e dos voláteis além do tamanho do substrato (EFFEBI et al., 2011).

Para Angelidaki et al. (2009) a atividade microbiana pode ser expressa pelo substrato específico e pelo consumo ou geração de produtos. Devido à expansão das técnicas de tratamento anaeróbio, uma série de pesquisas científicas tem se desenvolvido com relação à determinação do potencial de biodegradabilidade de substratos orgânicos.

Logo se tornou essencial à definição de um protocolo padrão

para a determinação do potencial das atividades microbianas para definidos substratos. Porém não garantiu precisamente a comparação de resultados de biodegradabilidade com outros experimentos, devido a diferentes condições ambientais como temperatura, pressão e uso de diferentes inóculos.

Para se avaliar a atividade dos microorganismos, Aquino et al., (2007) afirma que a alimentação do reator deve ocorrer de maneira que os substratos apenas suporte a atividade dos microorganismos.

De acordo com Effebi et al (2011) os parâmetros a serem analisados na acidogênese e metanogênese são a produção e consumo de ácido acético.

Para Angelidaki et al. (2009) na fase de acidogênese deve ser analisados a produção de gás metano e de ácido acético, na acetogênese a demanda química de oxigênio (DQO) e na metanogênese a produção de metano.

## 4 METODOLOGIA

Este trabalho faz parte do desenvolvimento de uma tese de doutorado intitulada “Digestão Anaeróbia Mesofílica e Termofílica de Lodo Adensado de Estação de Tratamento de Esgoto” desenvolvida no Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina.

O experimento foi desenvolvido em escala laboratorial nas dependências do Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA II), ENS/UFSC.

O início dos ensaios em batelada com os frascos reatores ocorreu durante o mês de outubro tendo duração de 20 dias, utilizando temperatura mesofílica (35° C).

Todos os cálculos das concentrações dos substratos encontram-se no apêndice deste trabalho.

### 4.1. Origem e caracterização do inóculo

O inóculo coletado para a realização dos experimentos é oriundo de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB), localizado na estação de tratamento de esgotos (ETE) da Lagoa da Conceição, sob concessão da Companhia de Águas e Esgoto de Santa Catarina (CASAN) em Florianópolis.

O inóculo foi coletado na saída que corresponde a amostragem da zona de manta do lodo, onde ocorre a maior concentração e atividade dos microrganismos. A caracterização laboratorial foi realizada imediatamente após a coleta da amostra. Os métodos de análise estão de acordo com os procedimentos descritos em *Standard Methods* (APHA, 2005).

A Tabela 2 apresenta os procedimentos analíticos desenvolvidos para a caracterização do inóculo:

**Tabela 2** – Procedimentos Analíticos para caracterização do inóculo.

Variáveis Analisadas	Métodos	Unidades
Sólidos Voláteis	Gravimétrico (SM 2540)	mg/L
Alcalinidade	Kapp (SM 2320B)	mgCaCO <sub>3</sub> /L
AOV	Destilação (SM 5560C)	mlNaOH
DQO (total/solúvel)	Colorimétrico (SM*5220D)	mgO <sub>2</sub> /L

#### 4.1.1 DQO

Para se determinar a DQO, o método utilizado é o Colorimétrico o qual consiste em aquecer a amostra em um frasco fechado em meio fortemente ácido com conhecida quantidade de dicromato de potássio, colocado em excesso. Depois da digestão, o dicromato que sofreu redução é medido em espectrofotômetro UV-Vis, tendo seu resultado expresso em DQO como mgO<sub>2</sub>/L. O procedimento ocorre através do espectro de luz visível e a curva de calibração utilizada é para concentrações de DQO de até 1000 mgO<sub>2</sub>/L.

A determinação da DQO solúvel procede da mesma maneira, porém o inóculo antes da realização do ensaio é filtrado em membrana filtro de nitrato celulose, com porosidade de 0,22µm.

#### 4.1.2. Sólidos Voláteis

A determinação da série de sólidos ocorreu por secagem e calcinação de 50mL da amostra.

O método se inicia com a evaporação da umidade da amostra em uma chapa aquecedora seguido pela secagem com uso de estufa e resfriamento em temperatura ambiente em dessecador, para então ocorrer à pesagem. Desta maneira pela equação 4 tem-se o valor de P1.

$$ST \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{(P1 - P0)(mg) \times 1000}{V(mL)}$$

**Equação 4**

Onde:

ST – Concentração de sólidos totais;

P1 – Peso dos cadinhos com os sólidos secos após pesagem pela estufa a 105°C;

P0 – Peso inicial dos cadinhos após aferição;

V – Volume de amostra adicionada inicialmente ao cadinho.

A partir da calcinação em mufla de P1, obtemos a partir da Equação 5 o valor de P2.

$$SF \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{(P2 - P0)(mg) \times 1000}{V(mL)}$$

### Equação 5

Onde:

STF – Concentração de sólidos totais fixos;

P2 – Peso dos cadinhos com os sólidos calcinados após pesagem pela mufla à 550°C;

P0 – Peso inicial dos cadinhos após aferição;

V – Volume de amostra adicionada inicialmente ao cadinho.

A diferença entre ST e STF são os sólidos totais voláteis que corresponde aos microrganismos.

#### 4.1.3. Alcalinidade

A determinação da alcalinidade ocorre segundo o método de Kapp (1984). Toma-se 50 ml da amostra e a titula em solução de ácido sulfúrico. Realiza-se a leitura do volume do ácido gasto para os phs de 5,0; 4,3 e 4,0.

#### 4.1.4. Ácidos Orgânicos Voláteis

A determinação dos ácidos orgânicos voláteis segundo o método da destilação consiste em destilar a amostra com uma solução de ácido sulfúrico e água conhecida. O produto da destilação é titulado em solução de NaOH na presença de indicador fenolftaleína. Por intermédio da Equação 6 é possível calcular o volume de mg/L de AOV equivalente em ácido acético.



$$AOV \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{Vol NaOH \times 2 \times 60000}{Vol Amostra \times f} \left( \frac{mg}{L} AOV \text{ eq ácido acético} \right)$$

### Equação 6

A Tabela 3 apresenta a caracterização do inóculo utilizado nos reatores de ensaio de atividade microbiana.

**Tabela 3** – Caracterização do inóculo da atividade microbiana.

Parâmetros	Resultados
Sólidos Solúveis Voláteis	10,9 gSSV/L
Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV)	4338,4 mg AOV/L eq ácido acético
Alcalinidade	1120 mL CaCO <sub>3</sub> /L
DQO total	17787,5 mgO <sub>2</sub> /L
DQO solúvel	406,83 mgO <sub>2</sub> /L

## 4.2. Montagem dos reatores

### 4.2.1. Volume de inóculo

O volume de inóculo adicionado foi quantificado para que os reatores apresentassem equilíbrio na relação substrato/biomassa (gDQO/gSSV). Desta forma optou-se pela proporção 5gDQO/5gSSV em reatores de 500mL de volume útil, conforme recomendações de Angelidaki et al. (2009).

A partir desta relação e da concentração de SSV do inóculo, o volume de inóculo adicionado em cada reator dado pela Equação 7.

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

### Equação 7

Onde:

C<sub>1</sub>: Concentração de SSV em mg/L;

V<sub>1</sub>: Volume de inóculo ser adicionado em cada reator;

C<sub>2</sub>: Concentração de SSV no frasco reator;

V<sub>2</sub>: Volume útil dos reatores.

### 4.2.2. Seleção e volume de substratos preferências adicionados em cada frasco reator

A seleção dos substratos preferenciais para a atividade dos microrganismos seguiu recomendações de Angelidaki et al. (2009) e compõe-se respectivamente de: glicose, ácidos propiônico e butírico e ácido acético.

Após a escolha dos substratos preferências determinou-se o volume de cada substrato utilizado para a montagem dos reatores.

#### **4.2.2.1. Glicose**

Através da Equação 7, tendo  $C_1$  dado pela concentração da DQO média da solução mãe de glicose em  $\text{mgO}_2/\text{L}$ ,  $V_1$  o volume de glicose a ser adicionado em cada reator,  $C_2$  a concentração de glicose<sub>(dqo)</sub> e  $V_2$  o volume útil dos reatores foi possível calcular o volume de glicose necessário a ser adicionado em cada frasco reator acidogênico.

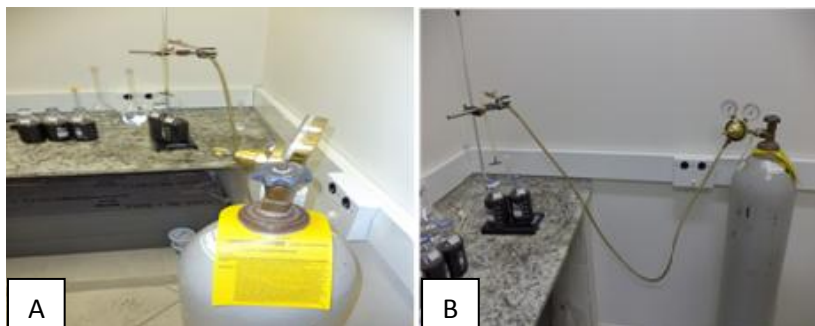
#### **4.2.2.2. Ácidos Butírico e Propiônico**

Através da Equação 7, foi possível calcular o volume de ácidos butírico e propiônico necessários a serem adicionados em cada frasco reator acetogênico, tendo  $V_1$  o volume de ácidos butíricos e propiônicos a ser adicionado em cada reator,  $C_2$  a concentração de butírico e propiônico<sub>(dqo)</sub> e  $V_2$  o volume útil dos reatores.

#### **4.2.2.3. Ácido Acético**

Através da Equação 7, foi possível calcular o volume de ácido acético a ser adicionado em cada frasco reator metanogênico, tendo  $V_1$  o volume de ácido acético a ser adicionado em cada reator,  $C_2$  a concentração de ácido acético<sub>(dqo)</sub> e  $V_2$  o volume útil dos reatores.

Após a adição dos volumes determinados, mediu-se o pH de cada frasco reator e com uso de bicarbonato de sódio regulou todos para um pH em torno de 6,6. Por fim para reduzir a concentração de oxigênio dissolvido, as amostras foram submetidas a um fluxo de gás nitrogênio durante 10 minutos como ilustra as Figura 3 a e b.



**Figura 3** - Utilização de nitrogênio comprimido para purga do oxigênio.

#### 4.2.3. Seleção e volume de nutrientes e meio redutor adicionados em cada frasco reator

A Tabela 4 apresenta a composição das soluções de micro e macro nutrientes adicionados em cada reator.

**Tabela 4** – Soluções de micro e macro nutrientes.

Nutrientes	Concentração (g/L)
NH <sub>4</sub> Cl	100
NaCl	10
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	10
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	5
K <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	200
Resazurina	0,5
FeCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	2
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,05
ZnCl <sub>2</sub>	0,05
CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,038
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0,05
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0,05
AlCl <sub>3</sub>	0,05
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,05
NiCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,092
EDTA o	0,5
HCl concentrado	0,1
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,1

Fonte: Angelidaki et al. (2009).

As soluções de meio redutor adicionados em cada reator são dadas pela Tabela 5.

**Tabela 5** – Soluções de meio redutor.

<b>Solução</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
Biotina	2
Ácido fólico	2
Piridoxina	10
Riboflavina	5
Cloridrato de tiamina	5
Cobalamina	0,1
Ácido Lipóico	5
Ácido Nicótico	5
Aminobenzoico	5

Fonte: Angelidade et al. (2009).

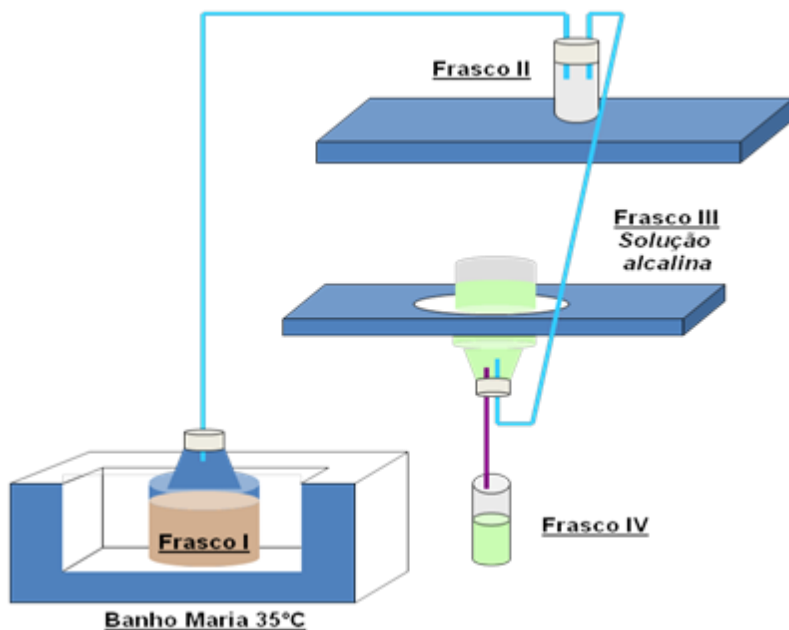
#### **4.2.4. Avaliação da atividade acidogênica, acetogênica e metanogênica específica do inóculo.**

Após a adição dos substratos e dos nutrientes, inicia-se a montagem dos sistemas que compõe o ensaio em bancada, efetuando a purga do oxigênio presente no meio com imediata conexão ao sistema de medição de produção de CH<sub>4</sub>.

O sistema experimental é composto dos seguintes elementos:

- Frascos I: Reatores (3 amostras acidogênicas D1,D2 e D3, 3 amostras acetogênicas T1, T2 e T3, 3 amostras metanogênicas, M1, M2 e M3 além de 3 brancos, B1, B2 e B3), em banho-maria com temperatura mesofílica (35°C), hermeticamente fechado com rolha de borracha;
- Frascos II: frascos de segurança;
- Frascos III: frascos com solução alcalina de NaOH 15% (gasômetro), com volume inicial de 400 m;
- Frascos IV: frascos coletores contendo NaOH 15%, (100 ml).

A Figura 4 representa esquematicamente a montagem dos reatores.



**Figura 4** - Esquema do sistema experimental em escala de bancada.  
 . Fonte: Adaptado de Pinto (2006) apud Leite (2011).

O biogás produzido no reator incubado em banho maria a 35 graus Celsius é conduzido por um sistema de mangueiras até o frasco II de segurança, passando então para o frasco III que contém solução de NaOH 15% (faz a lavagem do gás para que haja a adsorção do  $\text{CO}_2$ ). A pressão exercida sobre o frasco III desloca a solução de NaOH para o frasco IV. Esse volume deslocado é proporcional ao volume de gás  $\text{CH}_4$  produzido.

### 4.3. Consumo de Material Orgânico

Para verificar o consumo de material orgânico para cada reator e para comparar o efeito do tipo de substrato na remoção de carga orgânica realizaram-se ensaios laboratoriais analíticos de DQO total e solúvel.

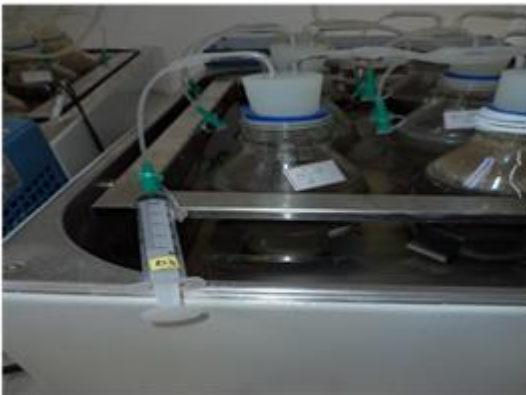
A bateria de experimentos se realizou tendo os reatores acidogênicos analisados por intermédio da produção de  $\text{CH}_4$ , AOV e DQO, os acetogênicos e metanogênicos pelas produções de  $\text{CH}_4$  e pelas DQOs.

As análises se sucederam duas vezes por semana em dias não consecutivos em um período de três semanas. A leitura do gás metano ocorreu diariamente em três períodos.

As coletas foram realizadas por intermédio de adaptação nos frascos reatores com o uso de materiais cirúrgicos, conforme se apresenta nas Figuras 5 e 6.



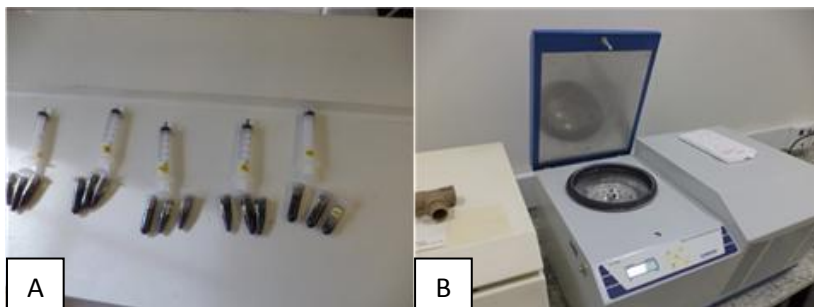
**Figura 5** - Adaptação dos frascos reatores para coleta da amostra.



**Figura 6** - Utilização de material cirúrgico para coleta da amostra.

Em cada coleta, 5 mL de amostra fora retirado de cada reator. As amostras coletadas são armazenadas em tubos tipo Eppendorf. Após coletadas as amostras são centrifugadas a 10000 rpm durante 5 minutos em microcentrifuga refrigerada modelo NT 805.

Na Figura 7, podem-se visualizar os tubos Eppendorf com as amostras coletadas e a centrífuga utilizada.



**Figura 7** - - Tubos Eppendorf com amostras (a); centrífuga utilizada (b).

Após a centrifugação as amostras são filtradas em membrana filtro de nitrato celulose de 0,22 µm para a realização dos AOVs e DQOs.

#### 4.4. Gás Metano

A medição e coleta de dados de produção de gás metano ocorreu três vezes ao dia entre os períodos matutino, vespertino e noturno. Os dados de produção de CH<sub>4</sub> foram armazenados diariamente em planilha.

De acordo com Santana (2002), a medida do volume de metano relaciona-se com a diferença do volume de NaOH no início e ao fim de um período de funcionamento. Utilizam-se as Equações 8 e 9 para o cálculo de volume produzido na CNTP e Seco:

*CNTP*

$$V = \frac{(P_{atm} \times p \times H \times g) \times V_{exp} \times T^{\circ}}{P_{atm} \times T_{seco}}$$

**Equação 8**

Onde:

V – volume de gás seco na CNTP.

P atm – pressão atmosférica.

p – densidade da NaOH 15%.

H – Altura de saída de NaOH do frasco invertido até o coletor.

G – constante de gravidade.

V<sub>exp</sub> – Volume medido de maneira experimental, ou seja, diferença. entre a quantidade inicial e final de NaOH.

T° - Temperatura padrão, CNTP dado em Kelvin (K).

T<sub>exp</sub> – temperatura experimental (K).

*Volume Seco*

$$V_{seco} = V \times f$$

### **Equação 9**

Onde:

V seco – Volume de gás seco.

V – Volume de gás na CNTP.

f – fator de umidade.

O volume seco corresponde ao gás sem umidade.

### **4.5. Determinação da velocidade máxima de produção de metano**

Para os reatores acetogênicos e metanogênicos, plotou-se um gráfico do volume de produção de gás metano versus o tempo. De forma empírica, as regiões de maior inclinação dos gráficos foram adotadas (maiores produções acetogênicas e metanogênicas). O coeficiente angular (dv/dt) da reta para as regiões pré-estabelecidas foi determinado e a maior velocidade de produção de metano é dada pelo maior coeficiente angular. A inclinação fornece a velocidade de produção de metano em mL CH<sub>4</sub>/dia que é dado pela Equação 10.

$$Atividade\ máx \left( \frac{mlCH_4}{gSV} \cdot h \right) = \frac{dv}{dt} \times \frac{24\ h}{d} \times \frac{1}{gSSV/L} \times \frac{1}{V}$$

### **Equação 10**

### **4.6. Determinação da velocidade de degradação da matéria orgânica**

Para os reatores acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos, em regiões pré-estabelecidas foi determinado à velocidade de



degradação da matéria orgânica que é dada pela variação da concentração da DQO ao longo do tempo, segundo a Equação 11.

$$\text{Velocidade } \left( \frac{\text{mgO}_2}{\text{L x h}} \right) = \frac{\text{Concentração } (c_f - c_i) \left( \frac{\text{mgO}_2}{\text{L}} \right)}{\text{Tempo } (t_f - t_i)(h)}$$

**Equação 11**

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Montagem dos Reatores

A Tabela 6 apresenta um resumo dos volumes de inóculo, substratos e nutrientes adicionados em cada frasco reator incubados a 35°C. Estes valores foram determinados partir do volume útil dos reatores (500mL) e das concentrações das soluções estoques de substratos e inóculo mencionados no item 4.2 da metodologia.

**Tabela 6** – Montagem dos reatores.

<b>Reatores</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Inóculo (mL)</b>	<b>Substrato (mL)</b>	<b>Nutrientes (mL)</b>
Branco	500	229,2	-	270,6
Acidogênicos	500	229,2	268,5	2,1
Acetogênicos	500	229,2	48,7	221,7
Metanogênicos	500	229,2	121,6	148,9

Em todos os reatores o volume adicionado de inóculo foi 229,2 mL. Assumiu-se o mesmo valor de inóculo em todos os reatores para que qualquer variação no comportamento do processo biológico não fosse associada à quantidade de SSV no meio reacional. Nos reatores brancos não se adiciona substrato, pois é a partir da matéria orgânica endógena que se calcula a produção de gás, AOV e DQO.

Nos reatores acidogênicos adicionou-se a maior quantidade de substrato e a menor de nutrientes. Nos acetogênicos foi adicionada a maior quantidade de nutrientes e a menor de substrato. O volume mais próximo adicionado de substratos e nutrientes entre si foram nos metanogênicos.

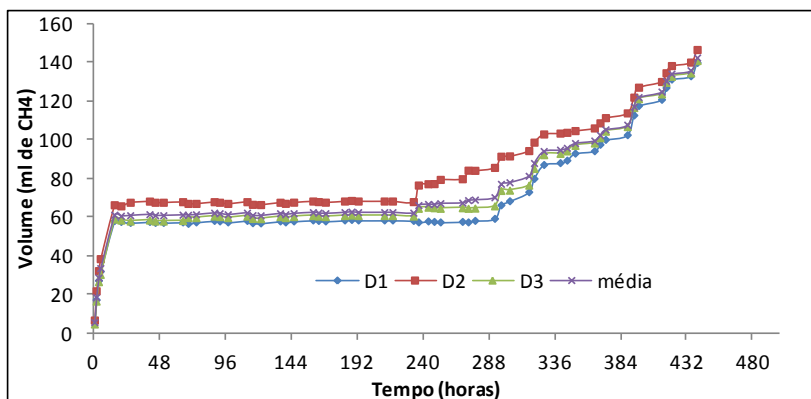
### 5.2. Reatores Acidogênicos

O funcionamento do experimento em batelada inicia-se no dia 8 de outubro de 2013 (t=0 h), sendo monitorado até o dia 28 de outubro do mesmo ano (t=440 h). Os resultados serão analisados a partir da média das réplicas dos reatores.

No dia 19 de outubro ( $\pm 264$  h) as amostras acidogênicas e acetogênicas foram filtradas em filtro de acetato celulose com porosidade de 0,45  $\mu\text{m}$ . Desta maneira as concentrações medidas neste ponto foram desconsideradas da análise, por serem atípicas.

A Figura 8 apresenta a produção volumétrica de gás metano obtida pela tréplica de reatores acidogênicos. Verifica-se que os três reatores apresentaram tendência similar de produtividade a qual se destaca por três momentos distintos:

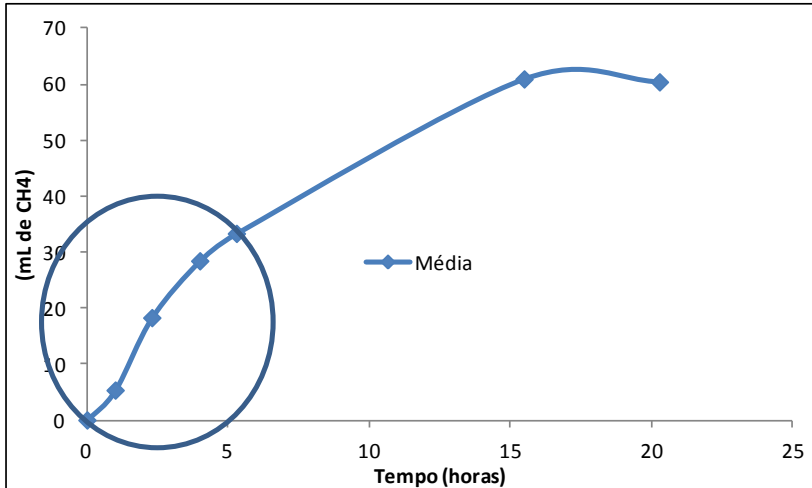
- Crescente produtividade de  $\text{CH}_4$  ao início do experimento (16 h, fase I);
- Fase sem grande variação (16 as 288 h, fase II);
- Crescente produção de gás metano (a partir de 288 h, fase III).



**Figura 8** - Produção de gás metano nos reatores acidogênicos.

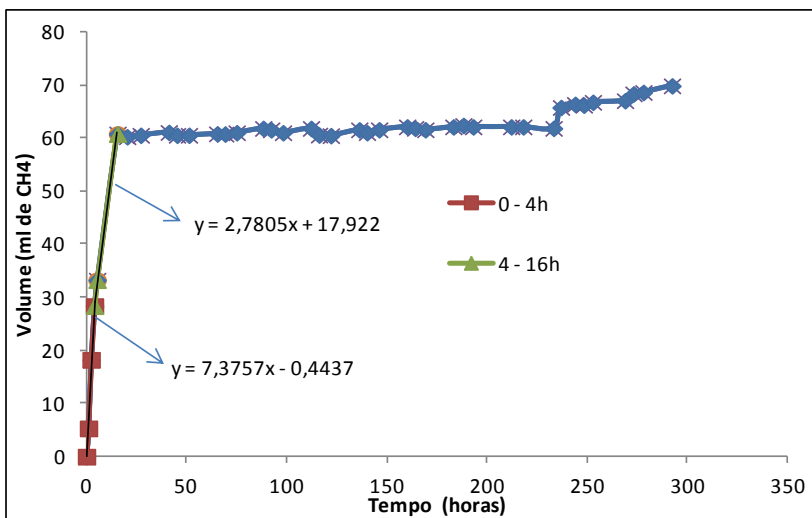
No início do experimento, o volume de  $\text{CH}_4$  foi crescente, apresentando rendimento máximo de 60,4 mL nas primeiras 16 horas como pode ser visualizado na Figura 9.

O valor acumulado, nas cinco primeiras horas foi de 33,34 mL, representando 55% da produção de  $\text{CH}_4$ , ou seja, o volume acumulado nas primeiras 5 horas foi superior às 11 horas restantes.



**Figura 9** – Destaque de produção de metano nas cinco primeiras horas.

Por intermédio de linhas de tendência, foi possível calcular o coeficiente angular da reta ( $dv/dt$ ) de distintos intervalos da média dos valores dos reatores acidogênicos de acordo com a Figura 10.



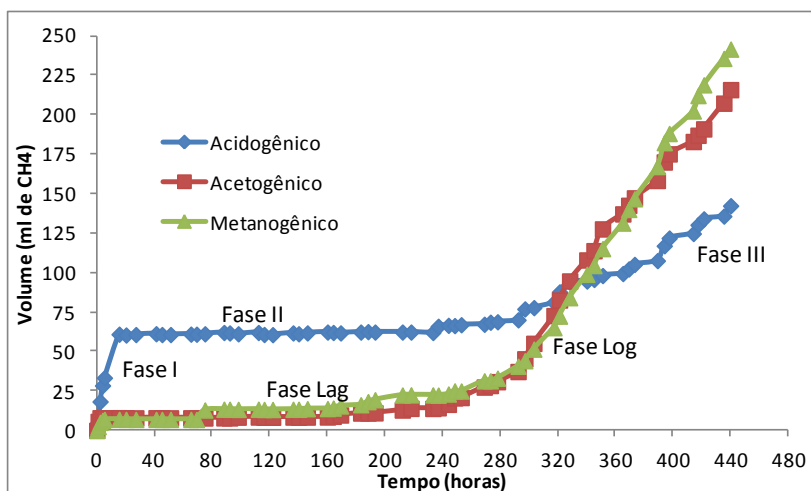
**Figura 10** – Velocidade máxima da produção de metano nos acidogênicos.

O intervalo correspondente às quatro primeiras horas do experimento possui o maior coeficiente angular ( $dv/dt = 7,37$ ). Neste período de tempo tem-se a maior velocidade de produção de metano (acumulado de 28,4 mL de  $\text{CH}_4$ ).

Segundo Foresti et al. (2003) a degradação da glicose ocorre de maneira extremamente rápida, citando um experimento no qual 2000 mg/L de glicose é degradada em quatro horas por microrganismos em um ensaio em batelada de escala de bancada.

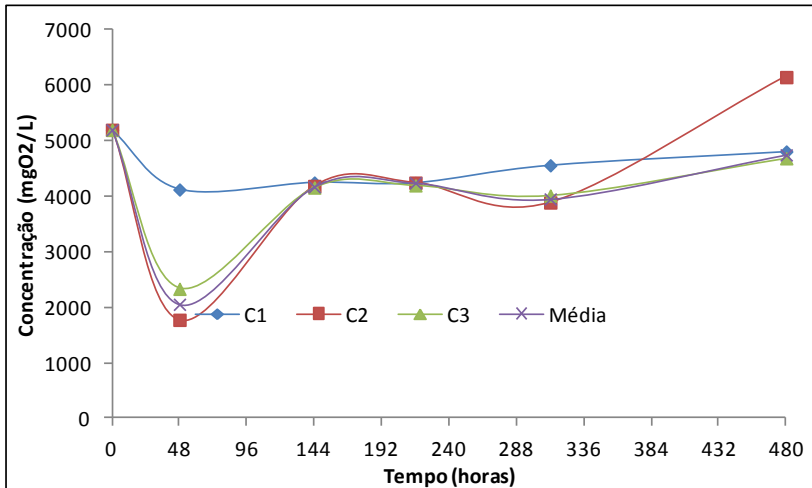
Por intermédio da Equação 10, a atividade acidogênica máxima medida, resultou em 1,47 mL  $\text{CH}_4/\text{gSSV.d}$  para o período experimental compreendido entre 0 e 4h.

Foram obtidos maiores volumes de  $\text{CH}_4$  nos reatores acidogênicos (66,9 mL) comparados aos acetogênicos (22,38 mL) e metanogênicos (31,57 mL) durante as fases I e II dos reatores acidogênicos e fase lag dos reatores acetogênicos e metanogênicos como pode ser visualizado na Figura 11. Segundo Foresti et al. (2003) esta situação pode ocorrer visto que a degradação da glicose ocorre de maneira extremamente rápida em relação a outros substratos. O autor afirma ainda que a glicose é o primeiro substrato a ser degradado, liberando AOV e diminuindo a concentração de DQO no meio, ocorrendo redução da matéria orgânica no reator e aumentando a produção de metano.



**Figura 11** - Produção de gás metano médio nos reatores acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos.

Analisando a Figura 12 e utilizando a média dos reatores pode-se afirmar que a tendência súbita da produção de  $\text{CH}_4$  até às 48h inicial observada na Figura 11 foi proporcional à redução de concentração da DQO da glicose de 5199  $\text{mgO}_2/\text{L}$  iniciais para < 2000  $\text{mgO}_2/\text{L}$ .



**Figura 12** – Variação da DQO nos reatores acidogênicos ao longo do tempo.

Durante a fase I, que compreende o período experimental entre 0 e 16h, a DQO manteve-se com concentrações médias de 2055  $\text{mgO}_2/\text{L}$  ocorrendo intensa degradação da matéria orgânica e consequentemente elevada produção de  $\text{CH}_4$ .

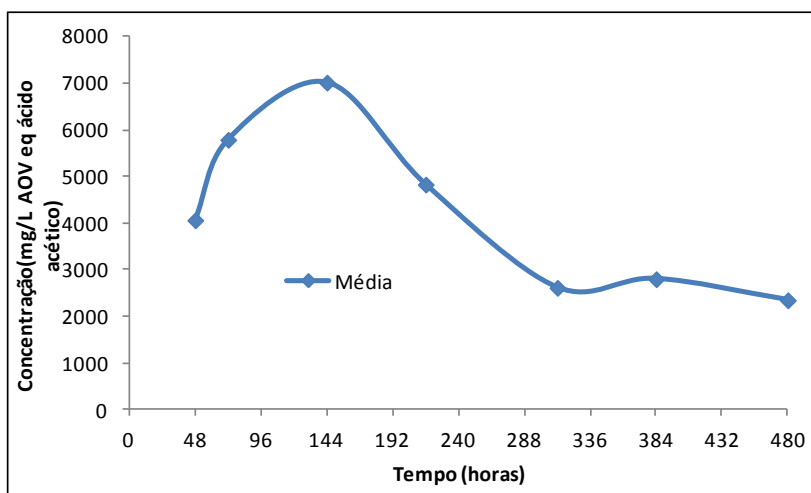
Durante a fase II, quando se tem a menor atividade dos microrganismos (66,5 mL de  $\text{CH}_4$  acumulado) ocorreu acréscimo das concentrações da DQO de 2055  $\text{mgO}_2/\text{L}$  para 4173  $\text{mgO}_2/\text{L}$ . Esta condição, segundo Prado e Montenegro (2001), pode estar relacionado ao aumento da própria massa de microrganismos no reator.

As concentrações da DQO reduzem, com a efetiva degradação da matéria orgânica e geração de metano durante os momentos iniciais da fase III (240h) e estabilizam-se próximo ao fim do experimento com 4000  $\text{mgO}_2/\text{L}$ .

A partir da equação 11 e da Figura 12 foi possível determinar que o intervalo de tempo entre 0 e 48h apresentou maior velocidade de

degradação da matéria orgânica ( $65,48 \text{ mgO}_2/\text{L.h}$ ) dentre todos os períodos do experimento acidogênico.

Os ácidos orgânicos voláteis são liberados de maneira mais efetiva na acidogênese quando ocorre a degradação da glicose, como já citado anteriormente. De acordo com a Equação 6 e a Figura 13, pode-se afirmar que a maior produção de AOV ocorreu nas primeiras horas (até 144h) quando a concentração de AOV se eleva de 4061 mg ácido acético equiv./L para 7015 mg ácido acético equiv./L.



**Figura 13** – Produção de AOV ao longo do tempo.

Durante a fase II (entre 16 e 288h), ocorre diminuição da formação de AOV. Nesta etapa do processo a glicose já foi transformada em outros compostos orgânicos (por exemplo,  $\text{CH}_4$  e  $\text{CO}_2$ ) (Figura 9) e a produção de ácidos orgânicos diminuem até o termino do experimento.

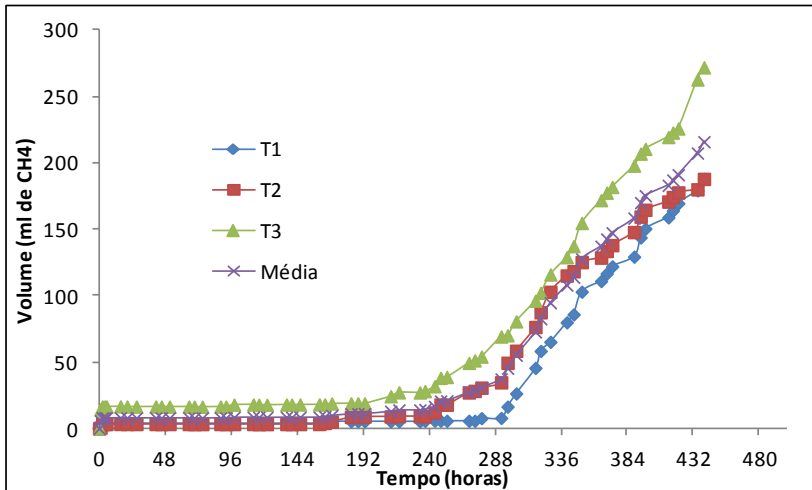
A análise da degradação da glicose resultou na maior produção de metano no início do experimento, com elevação da produção de ácidos orgânicos voláteis e com redução na concentração de DQO compensado pelo anabolismo dos microrganismos anaeróbios (período entre 48 e 144h).

### 5.3. Reatores Acetogênicos

Nos acetogênicos, nos quais uma solução de ácido butírico e propiônico foi utilizada como substratos, dois parâmetros foram analisados para mensurar a cinética dos microorganismos: DQO e produção de  $\text{CH}_4$ .

A Figura 14 apresenta a produção volumétrica de gás metano obtida pela tréplica de reatores acetogênicos. Verifica-se que os três reatores apresentaram tendência similar de produtividade a qual se destaca por dois momentos distintos:

- Fase lag de baixa produtividade de metano até às 288 horas, que corresponde ao tempo de resposta do sistema;
- Fase log na qual ocorre crescente produtividade de  $\text{CH}_4$  (após 288 horas).



**Figura 14** - Produção de gás metano nos reatores acetogênicos.

Desde o início do experimento até às 288 horas a produção acumulada de  $\text{CH}_4$  permaneceu baixa (37,8 mL). Pode-se dizer que os reatores acetogênicos passaram por um período lag, com retardo na produção de metano o que reduziu a cinética de degradação dos ácidos.

Segundo Furigo et al. (2006) o tempo de degradação dos ácidos butíricos e propiônicos são diferenciados. O propiônico tem tempo de degradação maior, reduzindo por consequência a produção de íon acetato e metano.

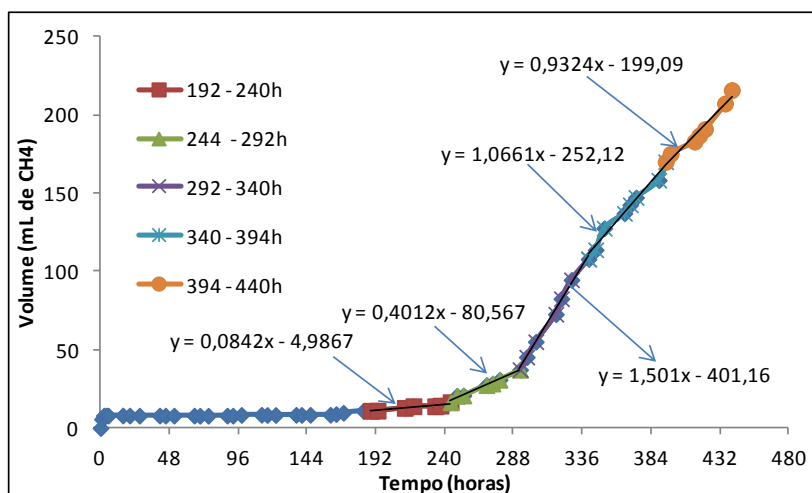
Tendo em vista que Soto (1993) resalta que a elevada concentração de substrato pode desencadear uma fase lag e sabendo-se



que nesta pesquisa foi utilizada a relação A/M máxima recomendada pela literatura especializada (Angelidaki et al., 2009) a fase lag observada pode ter relação com a quantidade de alimento adicionado no reator acetogênico.

Para Nascimento et al. (1996) outro fator que pode explicar a demora na produção de metano é a elevada velocidade de produção de ácidos pela acetogênese em comparação à velocidade de seu consumo e por consequência produção de metano.

Por intermédio de linhas de tendência, foi possível calcular o coeficiente angular da reta ( $dv/dt$ ) de distintos intervalos da média dos valores dos reatores acetogênicos de acordo com a Figura 15.

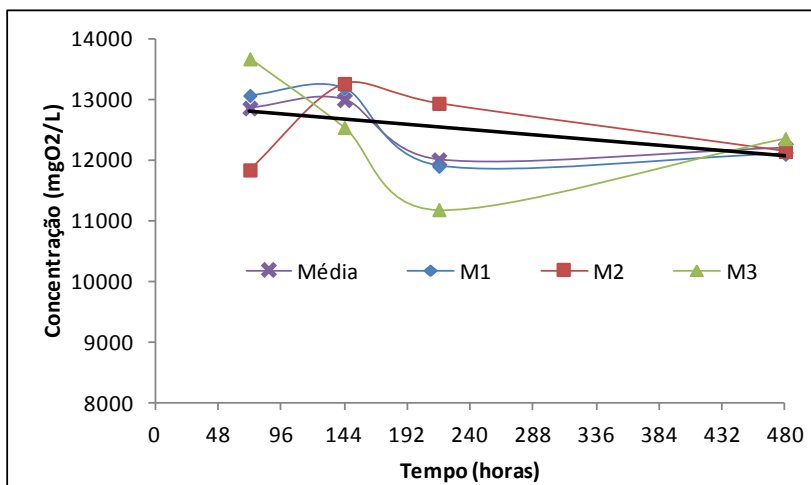


**Figura 15** – Velocidade máxima da produção de metano nos acetogênicos.

O período que corresponde ao início da fase log (288 horas) apresentou o maior coeficiente angular (1,501), logo neste período ocorreu a maior produção de metano em menor tempo, resultando na maior velocidade de produção de metano de toda a curva da média dos reatores acetogênicos. Por intermédio da Equação 10, a atividade acetogênica máxima, resultou em 0,30 ml CH<sub>4</sub>/gSSV.d para o intervalo de tempo entre 292 e 340h. Nesta etapa do processo, os microrganismos acetogênicos realizam com maior efetividade a degradação dos ácidos butíricos e propiônicos resultando em ácido acético, disponibilizados aos metanogênicos. Com relação à tendência do gráfico pode-se

verificar que à medida que a fase log vai decorrendo, os valores da velocidade de degradação diminuem gradativamente.

A partir da Figura 16, pode-se afirmar que as concentrações de DQO apresentaram pouca variação com média de 12509 mgO<sub>2</sub>/L. Pela linha de tendência é possível visualizar uma discreta redução entre a concentração inicial (12853 mgO<sub>2</sub>/L) e final (12193 mgO<sub>2</sub>/L).



**Figura 16** – Variação da DQO nos reatores acetogênicos ao longo do tempo.

Foi observado que a concentração de DQO foi reduzida gradualmente apresentando seu menor valor (12000 mgO<sub>2</sub>/L) às 220h experimentais.

A partir da equação 11 e da Figura 16 foi possível determinar a velocidade máxima de degradação da matéria orgânica (13,73 mgO<sub>2</sub>/L.h) no intervalo de tempo (144 e 240h). Esta velocidade está inserida no intervalo que compreende o ponto de transição entre a fase lag e log (240 horas), onde se caracteriza pelo início da efetiva atividade acetogênica com maiores produções de CH<sub>4</sub> como mostrado na Figura 14.

No início do experimento os microrganismos acetogênicos apresentaram menor valor de produção de CH<sub>4</sub> (16,5 mL) em relação aos acidogênicos (66,54 mL). Entretanto o volume acumulado deste gás foi maior nos reatores acetogênicos (212,9 mL de CH<sub>4</sub>). Ambos reatores apresentaram uma fase lag, que se caracteriza por ser um período de

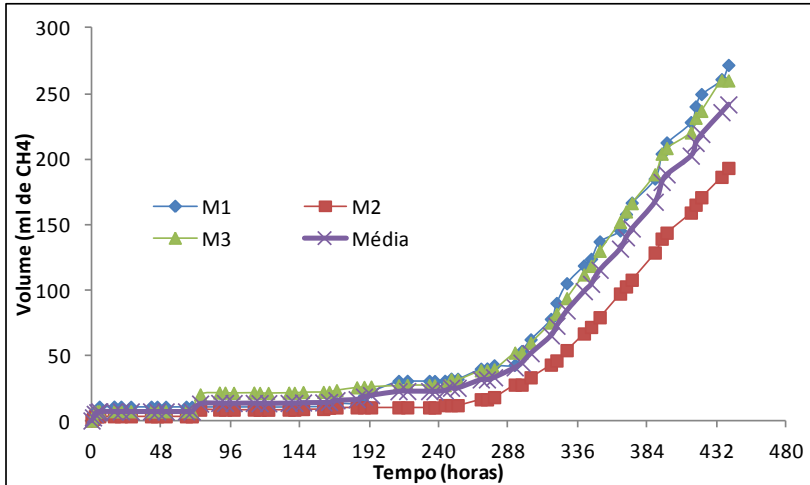
adaptação dos microrganismos ao meio reacional no qual são submetidos (GALVÃO et al. 2006). Conforme a Figura 11 esta situação ocorre em semelhantes períodos de tempo nos acidogênicos (Fase II, 16 a 240 horas) e nos acetogênicos (0 a 240 horas) fato o qual pode corresponder à atividade dos microrganismos acetogênicos, presentes no inóculo utilizado em ambos os reatores, embora favorecidos apenas no reator acetogênico.

A maior redução na concentração da DQO ocorreu nos reatores acidogênicos (5199 mgO<sub>2</sub>/L para 2055 mgO<sub>2</sub>/L) de acordo com a Figura 12, representando uma diminuição de 60%. Já nos acetogênicos (Figura 16) esta inferior a 8%. Em uma análise geral o comportamento da concentração da DQO nos acetogênicos foi mais constante (principalmente entre 72 e 216h experimentais) em relação aos acidogênicos que apresentaram maiores variações dada as diferentes fases evidenciadas nos resultados (Fase I, II e III).

#### **5.4. Reatores Metanogênicos**

Nos metanogênicos, nos quais o ácido acético foi utilizado como substrato, dois parâmetros foram analisados para mensurar a cinética dos microorganismos: DQO e produção de gás metano (CH<sub>4</sub>).

A Figura 17 apresenta a produção volumétrica de gás metano obtida pela tréplica de reatores metanogênicos. Verifica-se que os três reatores apresentaram tendência similar de produtividade a qual se destaca por dois momentos distintos: baixa produtividade de metano até às 288 horas e crescente produtividade de CH<sub>4</sub> (após 288 horas).

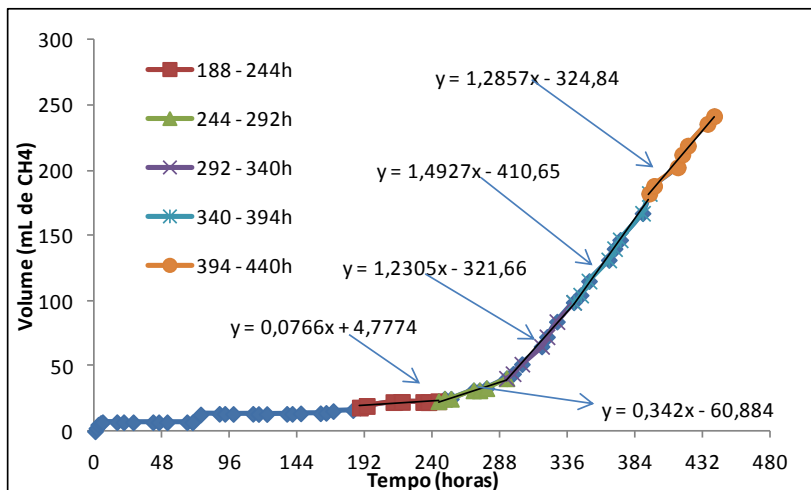


**Figura 17** – Produção de gás metano nos metanogênicos.

Até às 240 horas experimentais a produção acumulada de  $\text{CH}_4$  permaneceu baixa (23,05 mL). Assim como os acetogênicos os reatores metanogênicos, passaram por um período lag, com retardo na produção de metano reduzindo a cinética de degradação do ácido acético. A fase lag metanogênica durou 240 horas (Figura 17) e foi menor que o da fase lag acetogênica (288 horas, Figura 15). Para Furigo et al. (2006) esta diferença é dada pela degradação do ácido acético ser mais rápida que a dos ácidos butírico e propiônico. O tempo de resposta nos três reatores foi, portanto diferenciado, devido ao tempo necessário para metabolizar cada substrato e também pela desconhecida densidade dos diferentes grupos microbianos presentes no inóculo testado.

Realizando uma comparação entre todos os reatores, os metanogênicos apresentaram maior produção final de gás metano acumulado (241,6 ml), como já se era esperado pelo fato dos microrganismos metanogênicos metabolizarem diretamente compostos orgânicos de menor peso molecular (FURIGO et al., 2006).

Por intermédio de linhas de tendência, foi possível calcular o coeficiente angular de distintos intervalos da média dos valores dos metanogênicos como apresentado na Figura 18.

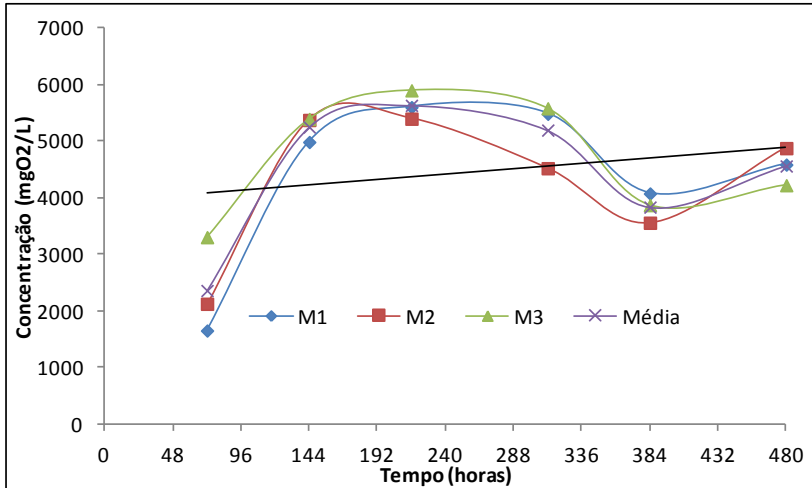


**Figura 18** – Velocidade de produção de metano nos metanogênicos.

O intervalo compreendido entre 340 e 394h apresentou maior coeficiente angular ( $dv/dt=1,49$ ), logo neste período ocorreu a maior produção de metano (variação de 98,9 para 189,3mL de CH<sub>4</sub> acumulado) em menor tempo (54 horas). Por intermédio da Equação 10, a atividade metanogênica máxima, resultou em 0,30 ml CH<sub>4</sub>/gSSV.d para o período experimental entre 340 e 394h.

As velocidades máximas de produção de metano são iguais para os reatores acidogênicos e acetogênicos (0,30 ml CH<sub>4</sub>/gSSV.d). A maior densidade de microrganismos acetogênicos na biomassa equilibra a produção e o consumo de ácido acético nos reatores acetogênicos e compensa a produção de CH<sub>4</sub> pelos microrganismos metanogênicos, presentes em menor densidade neste inóculo. O consumo de íon acetato nos reatores metanogênicos é, portanto, compensado pela maior densidade de microrganismos acetogênicos que disponibilizam este substrato a partir do metabolismo do ácido propionico e butírico à mesma velocidade que os acetogênicos.

A degradação da matéria orgânica nos metanogênicos é dada pela Figura 19.



**Figura 19** – Variação da concentração da DQO nos reatores metanogênicos ao longo do tempo.

A elevação da concentração da DQO de 2362 mgO<sub>2</sub>/L para 5417 mgO<sub>2</sub>/L (até 240 horas) é produto do período lag, onde ocorre a menor taxa de degradação da matéria orgânica. A redução para 3837 mgO<sub>2</sub>/L (288 horas) é reflexo da fase de transição entre os períodos lag e log, quando é notável que a atividade metanogênica cresce como se verifica na Figura 17.

A partir da equação 11 e da Figura 19 foi possível determinar a maior velocidade de degradação da matéria orgânica (18,9 mgO<sub>2</sub>/L.h) em determinado período de tempo (312 a 384h) dentre todos os períodos do experimento metanogênico de maior velocidade de produção de CH<sub>4</sub> conforme já mencionado.



## 6 CONCLUSÕES

Com relação à atividade acidogênica a glicose foi degradada em menor tempo em comparação aos substratos utilizados nos acetogênicos e metanogênicos, gerando a maior produção de metano nas primeiras quatro horas experimentais.

O reator acidogênico apresentou a maior velocidade de remoção de carga orgânica aplicada com valor médio de 65,48 mgO<sub>2</sub>/L.h. Foi observada a formação de fases lag relacionadas a aclimatação da biomassa ao substrato. Outro resultado importante é com relação ao tempo de resposta do sistema. Todos os três reatores obtiveram um tempo médio para resposta efetiva do sistema (atividade microbiológica) e aumento da produção de gás metano com doze dias de operação ou 288 horas após o início do experimento. Entretanto todos os reatores apresentaram produção crescente de gás metano após 12 dias do início do experimento.

A velocidade máxima específica de produção de metano foi de 1,47 mL CH<sub>4</sub>/gSSV.d nos acidogênicos e de 0,30 mL CH<sub>4</sub>/gSSV.d nos acetogênicos e metanogênicos.

A produção acumulada de gás metano foi maior no reator metanogênico (241,6 mL) seguido dos acetogênicos (215,92 mL) e acidogênicos (142,05 mL). Este resultado se relaciona ao metabolismo da biomassa anaeróbia que se favorece na presença de substrato de menor peso molecular como o ácido acético, desta maneira os resultados de volume de gás acumulado ao fim do experimento foram segundo o esperado.

Tendo em vista os resultados obtidos, pode-se afirmar que o processo de degradação anaeróbio realizado pelos microrganismos acidogênicos acetogênicos e metanogênicos ocorre de maneira simultânea.

De maneira geral a avaliação dos microrganismos acidogênicos, acetogênicos e metanogênicos quando submetido a substratos preferenciais, independente do substrato adicionado, a degradação deste é conduzida à formação de gás metano.

Para os próximos estudos sugere-se a realização de análise de produção de íon acetato nos reatores acidogênicos e consumo nos metanogênicos para melhor mensurar a atividade dos microrganismos assim como a realização de análises de DQO diariamente durante a primeira semana de experimento.

A tese de doutorado ao qual este trabalho é parte integrante utilizou a mesma biomassa que será utilizada como inóculo de digestor



anaeróbico em escala piloto. Este trabalho auxiliará no início da operação deste digestor fornecendo dados característicos como tempo de resposta do sistema e outros necessários para comparações futuras.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, E. F. Estudo da diversidade microbiana metanogênica em reatores uasb tratando esgoto sanitário. 2007. 105 f. **Dissertação** (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

AGNELLI, J. A. B. **Avaliação da potencialidade de produção de hidrogênio e AGV's a partir de efluentes industriais e domésticos utilizando diferentes inóculos.** 2010. 79 f. Curso de Engenharia Ambiental, Departamento de Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos Sp, 2010. Disponível em: <<http://www.tcc.sc.usp.br/tce/disponiveis/18/180300/tce-11022011-144010/>> Acesso em: 19 jun. 2013 f.

ALVES, M.M.S. Estudo e caracterização de digestores anaeróbios de leite fixo. 1998. 357 f. **Tese** (Doutorado) – Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, 1998.

ANDREOLI, C. V. **Resíduos sólidos do saneamento:** processamento, reciclagem e disposição final. Programa De Pesquisa Em Saneamento Básico (BRASIL). Curitiba: ABES, 2001. 257p.

ANGELIDAKI, I.; ALVES, M.; BOLZONELLA, D.; BORZACCONI, L.; CAMPOS, J. L.; GUWY, A. J.; KALYUZHNYI, S.; JENICEK, P. E VAN LIER, J. B. **Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays.** Water Science & Technology – WST. 2009

APHA; AWWA; WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 21 ed., USA, American Public Health Association, 2005.

AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. **Acumulo de ácidos graxos voláteis (agv's) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle.** 2005 Fev 23 [acesso em 2013 Mai 19]; 10(2): 152-161. Disponível em:<  
<http://www.scielo.br/pdf/esa/v10n2/a09v10n2.pdf>>

BELLI FILHO, P. Stockage e odeurs des dejections animales, cas du lisier de porc. **Thèse de Doctorat** de L'Université de Rennes I. France., 1995.

CASSINI, S. T.; CHERNICHARO, C.A.L.; ANDREOLI, C. V.; PAULA Jr., D.R.; BELLI FILHO, P.; LEITE, V.D. **Digestão de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento do biogás**. Sérgio Túlio Cassini (Coordenador). Projeto PROSAB 3 - Rio de Janeiro: ABES, RiMa, 2003.

CCE - Centro para a Conservação de Energia. **Guia técnico de biogás**. AGEEN – Agência para a Energia, Amadora, Portugal, 2000. 117 p.

CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. **Reatores anaeróbios**. 2 ed. Belo Horizonte: UFMG, 2007. 380 p.

COMPANHIA ESTADUAL DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO BASICO E DE CONTROLE DE POLUIÇÃO DAS AGUAS. Netto, A. (Org.). **Lagoas de estabilização**. 2 ed. São Paulo: ABES, 1975. 241 p.

CRAVEIRO, A.M. Influência da Proporção de Lixo e Lodo de Esgoto no Processo de Digestão Anaeróbia desses Resíduos. **Dissertação** (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo. 136 p. 1982.

DEMIREL, B. & SCHERER, P. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. **Environmental Science Biotechnology**, n. 7, p.173-190, 2008.

DEUBLEIN, D. & STEINHAUSER, A. **Biogas from Waste and Renewable Resources**: an introduction. Wiley-VCH, Weinheim, 472p, 2008.

EFFEBI, K. R. et al. Acidogenic and methanogenic activities in anaerobic ponds. **International Journal Of Scientific & Engineering Research**, p. 1-4. dez. 2011.

FORESTI. E. et al. **Comportamento de reator anaeróbio operado em batelada seqüencial, contendo biomassa imobilizada, submetido a aumento progressivo da concentração de substrato de fácil**

**degradação.** Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2003.

FURIGO A. J. et al. Cinética de degradação anaeróbia de ácidos voláteis de Cadeia Curta na presença do pentaclorofenol. Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2006.

GALVÃO. M. S. N.; YAMANAKA. N.; TANJI. S.; Preservação de duas microalgas *Nannochloropsis oculata* e *Tetraselmis* por resfriamento e congelamento. **B. Ins. Pesca**, v. 1, p. 1-11, 1996

GERARDI, M. H. **The Microbiology of Anaerobic Digesters**, 1 ed. Wiley-Interscience, 2003.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos.** ABES, 4 ed, Rio de Janeiro, 2003.

LEITE, W. R. M. Digestão anaeróbia mesofílica de lodo adensado de estação de tratamento de esgoto. 2011, 142f. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

LETTINGA, G.; HULSHOF, P. L. W.; ZEEMAN, G. Biological Wastewater Treatment. Part I: Anaerobic wastewater treatment. Lecture Notes. Wageningen Agricultural University, ed. January 1996.

MARTINS, D.S.; ASSIS, E.G. Estudo de viabilidade econômica da implantação de um biodigestor em uma granja de perus. In: XXVII Encontro Nacional de Engenharia de Produção, 27, 2007, Foz do Iguaçu. **Anais** eletrônicos, 2007. Disponível em: <[http://www.abepro.org.br/biblioteca/ENEGEP2007\\_TR590444\\_9790.pdf](http://www.abepro.org.br/biblioteca/ENEGEP2007_TR590444_9790.pdf)>. Acesso em: 11 mai. 2013.

METCALF.; EDDY. **Wastewater Engineering: Treatment and reuse.** 4 ed. New York: McGraw-Hill, 2003.

MORAES, L M. Avaliação da biodegradabilidade anaeróbia de lodos de esgoto provenientes de reatores anaeróbios sequenciais. 2005. 164 f. **Tese** (Doutorado) - Curso de Engenharia Agrícola, Departamento de Faculdade de Engenharia Agrícola - Feagri, Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Campinas, 2005.

NASCIMENTO, N O.; HELLER, L.; VON SPERLING, M. Engenharia sanitária e ambiental, O delineamento experimental. *Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 1, abr./jun. 1996.

NUVOLARI, Ariovaldo. **Esgoto sanitário**: coleta, transporte, tratamento e reúso agrícola. 2 ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2003. 520 p.

PECORA, V.; FIGUEIREDO, N. J. V.; COELHO, S. T.; VELÁZQUEZ, M. S. G. (2008). **Biogás e o Mercado de Créditos de Carbono**, 1-5

SANTANA, F. B. Tratamento anaeróbio de águas residuárias da indústria de couro. 2002, 102f. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

SILVA, W. R. Estudo cinético do processo de digestão anaeróbia de resíduos sólidos. 2009. 175 f. **Tese** (Doutorado) - Curso de Química, Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Pa, 2009. Disponível em: <[http://www.quimica.ufpb.br/posgrad/teses/Tese\\_Wellington\\_Regis\\_Silva.pdf](http://www.quimica.ufpb.br/posgrad/teses/Tese_Wellington_Regis_Silva.pdf)>. Acesso em: 28 mai. 2013.

SOTO, M., MENDEZ, R. E LEMA, J.M. Methanogenic and non-methanogenic activity tests.theoretical basis and experimental set up. 1993. 1973p.

TURONSKIY, I.S. & MATHAI, P.K. **Wastewater sludge processing**. New Jersey: Wiley Interscience, 2006. 354p.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. 3 ed. v.1 Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, 452p; 2005.

ZAGO, S. Potencialidade de produção de energia através do biogás integrada à melhoria ambiental em propriedades rurais com criação intensiva de animais, na região do Meio Oeste Catarinense. 2003. 90 f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Engenharia Ambiental, Departamento de Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau Sc, 2003.

ZEB, B. S.; MAHMOOD, Q.; PERVEZ, A. Characteristics and Performance of Anaerobic Wastewater Treatment (A Review). **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 35, n. 1, p. 217-232, 2013.

WANG, Q.; KUNINOBU, M.; OGAWA, H.I; KATO, Y. Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion. **Biomass and Bioenergy**, n.16, p. 407–416, 1999.



## 8 APÊNDICE

### Cálculo das Concentrações

O cálculo do volume de inóculo adicionado em cada reator de acordo com a equação 7 é:

$$10,9 \times V1 = 5 \times 500$$

$$\text{Volume de inóculo} = 229,3578 \text{ mL}$$

Glicose:

Para obter a solução padrão de glicose, diluiu-se 1g de glicose, concentração conhecida, em 99 ml de água destilada. A média das concentrações de DQO é dada pelo apêndice 1.

DQO medida (mgO <sub>2</sub> /L)	Diluição	Valor (mgO <sub>2</sub> /L)	Média (mgO <sub>2</sub> /L)
178,80	50 x	8940	9310,25
193,61	50 x	9680,5	

**Apêndice 1** – Média das concentrações de DQO da glicose.

Com concentrações conhecidas de DQO, foi possível calcular o volume de glicose necessário a ser adicionado em cada frasco reator acidogênico de acordo com a equação 7.

$$9310,25 \times V1 = 5 \times 500$$

$$V1 = 268,5213 \text{ mL}$$

Ácidos Butírico e Propiônico:

Para obter a solução padrão de ácido butírico e propiônico, determinou-se a concentração de cada ácido dado pelo Apêndice 2

Ácidos	Concentração (g/L)
Butírico	950
Propiônico	985,05



**Apêndice 2** – Concentração dos ácidos butíricos e propiônicos.  
A concentração final de ácido butírico e propiônico são dadas pela equação 12.

$$C1 \times V1 + C2 \times V2 = Cf \times Vf$$

### Equação 12

$$1 \times 985,05 + 1 \times 950 = Cf \times 2$$

$$Cf = 967,5 \text{ g/L}$$

Utilizando uma concentração de 80g/l e a equação 7 tem-se:

$$967,5 \times V1 = 80 \times 100$$

$$V1 = 8,26 \text{ mL}$$

Desta maneira tem-se uma concentração padrão formada por 4,13 mL de ácido butírico e 4,13 mL de propiônico, diluídos em 91,74 mL de água destilada. A partir da solução padrão é possível calcular por intermédio do Apêndice 3 a quantidade volumétrica a ser adicionado aos reatores acetogênicos.

DQO medida (mgO <sub>2</sub> /L)	Diluição	Valor (mgO <sub>2</sub> /L)	Média (gO <sub>2</sub> /L)
839,06	60 x	50343,6	5114
851,02	60 x	51061,2	

**Apêndice 3** – Média das concentrações de DQO da solução de ácido butírico e propiônico.

Com concentrações conhecidas de DQO, foi possível calcular o volume de ácido butírico e propiônico a ser adicionado em cada frasco reator acetogênico de acordo com a equação 7.

$$5114 \times V1 = 5 \times 500$$

$$V1 = 48,87 \text{ mL}$$

Ácido Acético:

Para obter a solução padrão de ácido acético, determinou-se a sua concentração segundo consta no Apêndice 4.

Ácido	Concentração (g/L)
Acético	1046,85

**Apêndice 4** – Concentração do ácido acético.

Utilizando uma concentração de 20g/L e a equação 7 tem-se:

$$1046,85 \times V1 = 20 \times 100$$

$$V1 = 1,9105 \text{ mL}$$

Desta maneira tem-se uma concentração padrão formada por 1,9105 mL de ácido acético, diluídos em 98,0895 mL de água destilada. A partir da solução padrão é possível calcular por intermédio da concentração média da DQO segundo Apêndice 5 a quantidade volumétrica a ser adicionada em cada frasco reator metanogênico.

DQO medida (gO <sub>2</sub> /L)	Diluição	Valor (mgO <sub>2</sub> /L)	Média (gO <sub>2</sub> /L)
411,31	50 x	20565,5	
411,25	50x	20562,5	20550
410,44	50x	20522	

**Apêndice 5** – Concentração de DQO média do ácido acético.

Com concentrações conhecidas de DQO, foi possível calcular o volume de ácido acético necessário a ser adicionado em cada frasco reator metanogênico segundo a equação 7.

$$20550 \times V1 = 5 \times 500$$

$$V1 = 121,65 \text{ mL}$$

### Aferição do balão volumétrico para análise dos AOV

O valor de  $f$  para aferição do balão volumétrico com valor de 6,5 ml de NAOH 0,02 N titulado é dado pela equação 13.

$$mgAOV = \frac{6,5 \times 2 \times 60000}{150} = \frac{5200mgAOV}{L}$$

**Equação 13**

$$f = \frac{5,20}{6} = 0,86667$$