



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA



Marina Sayuri Kashiwabara

AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO ANAERÓBIO NA BIODEGRADAÇÃO DE
EFLUENTE CONTAMINADO POR BIODIESEL

Uberlândia

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA



Marina Sayuri Kashiwabara

**AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO ANAERÓBIO NA BIODEGRADAÇÃO DE
EFLUENTE CONTAMINADO POR BIODIESEL**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Engenharia Química da
Universidade Federal de Uberlândia como parte
dos requisitos necessários à obtenção do título de
Mestre em Engenharia Química.

Uberlândia

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

K19a Kashiwabara, Marina Sayuri, 1990-
2017 Avaliação do tratamento anaeróbio na biodegradação de efluente
 contaminado por biodiesel / Marina Sayuri Kashiwabara. - 2017.
 141 f. : il.

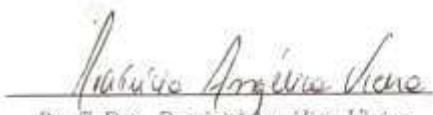
Orientadora: Patrícia Angélica Vieira.
Coorientador: Eloízio Júlio Ribeiro.
Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2017.66>
Inclui bibliografia.

1. Engenharia química - Teses. 2. Biodiesel - Contaminação - Teses.
3. Efluentes toxicos e poluentes - Teses. I. Vieira, Patrícia Angélica,
1978-. II. Ribeiro, Eloízio Júlio, 1957-. III. Universidade Federal de
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV.
Título.

CDU: 66.0

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA COMO PARTE DOS REQUISITOS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM ENGENHARIA QUÍMICA, EM 28/07/2017.

BANCA EXAMINADORA:


Prof. Dra. Patricia Angélica Vieira
Orientadora (PPGEQ/UFU)


Prof. Dr. Eloízio Júlio Ribeiro
Orientador (PPGEQ/UFU)


Prof. Dra. Miriam Maria de Resende
(PPGEQ/UFU)


Prof. Dr. Ubirajara Coutinho Filho
(PPGEQ/UFU)


Prof. Dra. Bruna Vieira Cabral
(Engenharia Ambiental/UFTM)

Dedico essa dissertação aos meus pais, Maria de Lourdes e Pedro, e ao meu irmão Marcelo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora Aparecida por mais esta conquista.

A minha família, em especial a minha mãe por todo amor, apoio, dedicação e cuidado. Eu não chegaria aqui sem você.

Á orientadora e professora Patrícia Angélica Vieira pela confiança e oportunidade depositada em mim. Agradeço por todas as orientações, ensinamentos e pela disponibilidade de tempo para o desenvolvimento do projeto.

Ao professor Eloízio J. Ribeiro por todos os ensinamentos e orientação.

Ao professor Ubirajara Coutinho Filho, ás professoras Miriam Maria de Resende e Bruna Vieira Cabral, pelas sugestões e correções.

Ao apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG – Brasil.

Á Usina Caramuru Alimentos S/A – São Simão – GO pela doação de amostra de biodiesel.

Á empresa Souza Cruz- Fábrica Uberlândia pela doação de amostra de lodo anaeróbio.

Aos professores da pós-graduação, Miria Hesphanhol, Luiz Gustavo Martins Vieira, Adilson José de Assis, Eloízio J. Ribeiro, Marcos Antônio de Souza Barrozo, Vicelma Luiz Cardoso, pela oportunidade de ser aluna e pelos ensinamentos.

Aos meus amigos Danielli Soares Barbosa, Rogério Duarte, Ana Lúcia Garcia, Ricardo Montandon Giani, Ronaldo Palhoni, Leo, Paula Cordeiro, Bruna, Guilherme Henrique, Mateus, Ana Carolina, Priscilla Moraes pela amizade, por toda ajuda, pelas caronas, pelos momentos de descontração e de aprendizado.

Ás alunas de Iniciação Científica, Bianca e Lorena por todo auxílio.

Á todos do NUCBIO.

Á pós-graduanda Letícia Rade por toda ajuda nas análises de ésteres.

Aos funcionários da graduação e da pós-graduação da Faculdade de Engenharia Química- UFU.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia, pela oportunidade concedida.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para esta conquista.

Muito obrigada!!!

"Antes de chorar sobre os limites que possui,
antes de reclamar de suas inadequações,
e fadar o seu destino ao fim,
aceita o desafio de pousar os olhos sobre este
aparente estado de fraqueza,
e ouse acreditar,
que mesmo em estradas de pavimentações
precárias,
há sempre um destino que poderá nos levar
ao local onde o sol se põe
tão cheio de beleza."

Padre Fábio de Melo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1 BIODIESEL E SUAS CARACTERÍSTICAS DE PRODUÇÃO	20
2.2 PROCESSOS DE BIODEGRADAÇÃO	23
2.2.1 Vantagens e desvantagens do tratamento anaeróbio em relação ao tratamento aeróbio	24
2.2.2 Biodegradação do biodiesel.....	25
2.2.3 FASES DA DIGESTÃO ANAERÓBIA	27
2.2.4 Fatores externos que afetam a digestão anaeróbia.....	31
2.2.5 Tipos de reatores empregados no processo de tratamento anaeróbio	36
2.2.5.1 Sistemas convencionais	36
2.2.5.2 Sistema de alta taxa	37
2.3 REATOR ANAERÓBIO DE FLUXO ASCENDENTE (UASB)	38
2.4 PRODUÇÃO, DESCARTE E AMOSTRAGEM DO LODO NO REATOR.....	43
2.5 ATIVIDADE METANOGÊNICA DO LODO (AML)	43
2.6 PARÂMETROS ESSENCIAIS DE PROJETO PARA REATOR UASB.....	44
3 MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1 MICRORGANISMOS	46
3.2 BIODIESEL	46
3.3 MEIO DE CULTIVO	46
3.4 EXPERIMENTO COM CULTURA C1	47
3.4.1 Adaptação da cultura C1 a mistura de óleo diesel e gasolina empregando aeração intermitente.....	47
3.4.2 Adaptação da cultura C1 ao biodiesel empregando aeração intermitente	48
3.4.3 Experimento da cultura C1 após adaptação	50
3.4.3.1 Avaliação do comportamento da biodegradação com o tempo empregando aeração intermitente.....	50
3.4.3.2 Preparo de inóculo sob condições anaeróbias.....	52
3.4.3.3 Experimentos em condições anaeróbias: avaliação do tipo de processo aplicado na preparação do inóculo	54
3.5 EXPERIMENTOS COM LODO (C2).....	56

3.5.1 Caracterização do lodo.....	56
3.5.2 Adaptação do lodo ao biodiesel	57
3.5.3 Experimento de biodegradação do biodiesel a 5 g/L empregando C2 adaptado.....	59
3.5.4 Avaliação da suplementação do meio de cultivo, relação alimento/microrganismo (A/M) e concentração de bicarbonato de sódio (NaHCO ₃) no processo de biodegradação empregando lodo (C2)	61
3.5.5 Experimento com reator UASB empregando lodo anaeróbio (C2).....	63
3.5.5.1 Reator UASB	63
3.5.5.2 Aclimatação do lodo anaeróbio para o reator UASB	64
3.5.5.3 Inoculação e partida do reator UASB.....	64
3.6 ANÁLISES QUANTITATIVAS	67
3.6.1 Análise de DQO.....	67
3.6.2 Análise de pH	67
3.6.3 Determinação de massa seca	67
3.6.4 Análise de biodiesel por cromatografia gasosa	67
3.6.5 Aferição e quantificação de biogás produzido	68
3.6.6 Determinação de sólidos suspensos totais (SST), fixos (SSF) e voláteis (SSV).....	69
3.6.7 Índice volumétrico de lodo (IVL).....	69
3.6.8 Sedimentabilidade.....	69
3.6.9 Determinação de teor de acidez e alcalinidade por titulação	70
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	71
4.1 EXPERIMENTOS COM CULTURA C1	71
4.1.1 Adaptação da cultura mista (C1) empregando aeração intermitente	71
4.1.2 Avaliação do comportamento de biodegradação com o tempo empregando aeração intermitente.....	75
4.1.3 Preparo do inóculo sob condições anaeróbias	78
4.1.4 Experimentos em condições anaeróbias: avaliação do efeito do tipo de processo de obtenção do inóculo na biodegradação do biodiesel	82
4.1.5 EXPERIMENTOS COM O LODO (C2).....	86
4.1.5.1 Caracterização do lodo biológico (C2).....	86
4.1.5.2 Adaptação do lodo biológico (C2)	87
4.1.5.3 Experimento de biodegradação do biodiesel a 5 g/L empregando C2 adaptado	92

4.1.5.4 Avaliação da suplementação do meio de cultivo, relação alimento/microrganismo (A/M) e concentração de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) no processo de biodegradação empregando lodo (C2)	96
4.1.5.5 Inoculação e partida do reator UASB.....	104
4.1.5.6 Operação em batelada.....	108
5 Resumo dos resultados obtidos para cada experimento	113
5.1 Experimentos com cultura C1	113
Experimentos em condições anaeróbias: avaliação do efeito do tipo de processo de obtenção do inóculo na biodegradação do biodiesel	114
5.2 Experimentos com lodo anaeróbio C2	114
5.3 Experimento com reator UASB e lodo C2.....	118
6 CONCLUSÃO	120
7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	122
8 REFERÊNCIAS	123
ANEXO A - DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO	130
ANEXO B - DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SUSPENSOS TOTAIS, FIXOS E VOLÁTEIS	135
ANEXO C - ÍNDICE VOLUMÉTRICO DE LODO	136
ANEXO D - TEOR DE ÁCIDEZ E ALCALINIDADE POR TITULAÇÃO	137
ANEXO E - PREPARO DAS SOLUÇÕES E SUAS PADRONIZAÇÕES PARA AS TITULAÇÕES	140

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Reação de transesterificação por catálise	22
Figura 2.2 - Diagrama de fluxo de processo do processo convencional de transesterificação	23
Figura 2.3 - Fórmula estrutural dos principais ésteres alquílicos de ácidos graxos constituintes do biodiesel.....	25
Figura 2.4 - Ciclo metabólico da digestão anaeróbia.....	30
Figura 2.5 - Esquema do reator UASB	39
Figura 2.6 - Configuração cilíndrica do reator UASB de bancada.....	40
Figura 2.7 - Corrosão do reator UASB	41
Figura 2.8 - Formação de escumas no reator UASB	42
Figura 3.1 - Esquema do procedimento de adaptação da cultura C1ao biodiesel nas concentração de 2,5 a 50 g/L empregando aeração intermitente.....	49
Figura 3.2 - Esquema do procedimento utilizado para avaliar a biodegração empregando aeração intermitente	51
Figura 3.3 - Esquema do procedimento de preparo do inóculo em condição anaeróbia	53
Figura 3.4 - Esquema do processo anaeróbio com inóculo preparado sob condição anaeróbia	55
Figura 3.5 - Esquema do processo anaeróbio com cultura C1 adaptada em condição com aeração intermitente	56
Figura 3.6 - Adaptação da cultura ao biodiesel	57
Figura 3.7 - Esquema do procedimento de adaptação do lodo C2	58
Figura 3.8 - Esquema dos procedimentos do experimento 1 com meio de cultivo M3, adição de 0,0042 g/L de NaHCO ₃ e sem troca de meio durante 16 dias de processo	60
Figura 3.9 - Esquema dos procedimentos do experimento 2 com meio de cultivo M3, adição de 1 g/L de NaHCO ₃ e sem troca de meio durante 16 dias de processo	61
Figura 3.10 - Detalhes do reator UASB empregado nos experimentos	63
Figura 3.11 - Esquema do procedimento de preparo do inóculo para o reator UASB	64
Figura 3.12 - Unidade experimental: operação batelada.....	66
Figura 4.1 - Aspecto a cultura mista C1 crescida em meio com concentrações crescentes de biodiesel	72
Figura 4.2 - Remoção de DQO para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 14 dias de processo.....	73

Figura 4.3 - Concentrações de células para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 14 dias de processo.....	74
Figura 4.4 - Comportamento do pH ao longo dos 14 dias de processo	74
Figura 4.5 - Remoções de DQO e de biodiesel para a condição com 50 g/L de biodiesel em 28 dias de processo após etapa de adaptação	75
Figura 4.6 - Perfil da concentração de DQO para a condição de 50 g/L de biodiesel em 28 dias de processo após adaptação	76
Figura 4.7 - Concentrações de células para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 28 dias de processo.....	77
Figura 4.8 - Comportamento do pH ao longo dos 28 dias de processo	78
Figura 4.9 - Remoções de DQO e de biodiesel para a condição com 50 g/L de biodiesel em processo anaeróbio em 28 dias de processo empregando inóculo preparado sob aeração intermitente.....	79
Figura 4.10 - Valores de DQO para a condição com 50 g/L de biodiesel em processo anaeróbio em 0,7, 14 e 28 dias de processo empregando inóculo preparado sob aeração intermitente.....	80
Figura 4.11 - Crescimento celular determinado por SSV para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 0,7,14 e 28 dias empregando processo anaeróbio com inóculo obtido de processo com aeração intermitente.....	80
Figura 4.12 - Valores de pH para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 0,7, 14 e 28 dias sob processo anaeróbio empregando inóculo preparado sob aeração intermitente	81
Figura 4.13 - Comparação do perfil de remoção de biodiesel para a condição com 5 g/L de biodiesel, em 0,7, 14 e 28 dias sob processo anaeróbio empregando inóculo preparado sob condição anaeróbia e aeração intermitente.....	82
Figura 4.14 - Comparação do crescimento celular por determinação de SSV para a condição com 5 g/L de biodiesel, em 0, 7, 14 e 28 dias sob processo anaeróbio empregando inóculo preparado sob aeração intermitente e na condição anaeróbia	84
Figura 4.15 - Comportamento de pH para a condição com 5 g/L de biodiesel, em 0 , 7, 14 e 28 dias sob processo anaeróbio empregando inóculo preparado sob aeração intermitente e na condição anaeróbia.....	85
Figura 4.16 - Comportamento da remoção de DQO empregando troca de meio a cada 2 dias de processo e concentrações crescentes de biodiesel.....	87
Figura 4.17 - Comportamento da DQO em empregando troca de meio a cada dois dias de processo e concentrações crescentes de biodiesel	88

Figura 4.18 - Comportamento da remoção de biodiesel empregando troca de meio a cada 2 dias de processo e concentrações crescentes de biodiesel	89
Figura 4.19 - Comportamento de SSV no início e no final do processo para as concentrações de biodiesel testadas.....	90
Figura 4.20 - Comportamento de pH ao longo do processo para as concentrações de biodiesel testadas	91
Figura 4.21 - Comportamento do pH em função do tempo de processo para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio	93
Figura 4.22 - Comportamento da concentração SSV em função do tempo de processo para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio	93
Figura 4.23 - Comportamento das remoções de DQO em função do tempo de processo para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio	94
Figura 4.24 - Comportamento das remoções de biodiesel em função do tempo de processo para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio	95
Figura 4.25 - Comportamento da concentração de DQO em função do tempo de processo para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio	96
Figura 4.26 - Comportamento da remoção de DQO em função do tempo de processo para os diferentes experimentos	97
Figura 4.27 - Comportamento da concentração de DQO para os diferentes experimentos	98
Figura 4.28 - Comportamento da remoção de Biodiesel em função do tempo de processo para os diferentes experimentos	98
Figura 4.29 - Comportamento do pH em função do tempo de processo para os diferentes experimentos.....	102
Figura 4.30 - Comportamento da relação AI/AP em função do tempo para os diferentes experimentos.....	102
Figura 4.31 - Comportamento da concentração SSV em função do tempo de processo para os diferentes experimentos	104
Figura 4.32 - Inoculação do reator vazio e adaptação do lodo C2 a condição ambiente	105
Figura 4.33 - Primeira etapa de alimentação do reator UASB	106
Figura 4.34 - Segunda etapa de alimentação do reator	107
Figura 4.35 - Resultados de remoções de DQO e de biodiesel para o tratamento de efluente contaminado com biodiesel a 5 g/L no reator UASB em operação batelada	109
Figura 4.36 - Efeito da degrabilidade do efluente	110
Figura 4.37 - Comportamento do pH ao longo do processo no reator UASB	110

Figura 4.38 - Relação AI/AP ao longo do processo, em reator UASB.....	111
Figura .A.1 - Solução de digestão de alta concentração	130
Figura .A.2 - Curva de calibração.....	131
Figura A.3 - Amostras no digestor e após digestão para análise de DQO	133
Figura E.1 - Ponto de viragem com indicador alaranjado de metila.....	141

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1- Matérias-primas utilizadas para a produção de biodiesel no Brasil	21
Tabela 3.1 - Cronograma dos experimentos avaliados	62
Tabela 3.2 - Composição do efluente sintético contaminado com biodiesel a 5 g/L	65
Tabela 4.1 - Resultados de remoção de DQO e seus desvios para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 14 dias de processo	73
Tabela 4.2 - Resultados de remoções de DQO e de biodiesel para a condição de 50 g/L de biodiesel em 28 dias de processo após etapa de adaptação	76
Tabela 4.3 - Resultado de concentração celular para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 28 dias de processo	77
Tabela 4.4 - Resultados de remoções de DQO e de biodiesel com desvios para a condição com 50 g/L de biodiesel em processo em 7,14 e 28 dias de processo empregando inóculo preparado sob aeração intermitente	79
Tabela 4.5 - Resultados de crescimento celular com desvios determinado por SSV para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 0, 7, 14 e 28 dias empregando processo anaeróbio com inóculo obtido de processo com aeração intermitente	81
Tabela 4.6 - Resultados de remoções de biodiesel com desvios para a condição com 5 g/L de biodiesel, em 0, 7, 14 e 28 dias sob processo anaeróbio empregando inóculo preparado sob condição anaeróbia e aeração intermitente	83
Tabela 4.7 - Resultados do crescimento celular com desvios por determinação de SSV para a condição com 5 g/L de biodiesel, em 0, 7, 14 e 28 dias sob processo anaeróbio empregando inóculo preparado sob aeração intermitente e na condição anaeróbia	84
Tabela 4.8 - Resultados da caracterização do lodo C2	86
Tabela 4.9 - Resultados de remoções de DQO com desvios empregando troca de meio a cada 2 dias de processo e concentrações crescentes de biodiesel	88
Tabela 4.10 - Resultados de remoções de biodiesel com desvios empregando troca de meio a cada 2 dias de processo e concentrações crescentes de biodiesel	88
Tabela 4.11 - Resultados de SSV com desvios no início e no final do processo para as concentrações de biodiesel testadas	90
Tabela 4.12 - Resultados das concentrações de SSV em função do tempo de processo e seus desvios para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio	94
Tabela 4.13 - Resultados de remoções de DQO em função do tempo de processo para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio	94

Tabela 4.14 - Resultados da remoções de biodiesel em função do tempo de processo e seus desvios para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio	95
Tabela 4.15 - Cronograma dos experimentos.....	97
Tabela 4.16 - Resultados de remoções de DQO em função do tempo de processo e seus desvios para os diferentes experimentos.....	98
Tabela 4.17 - Resultados de remoções de biodiesel em função do tempo de processo para os diferentes experimentos	99
Tabela 4.18 - Relação de biogás produzido nos diferentes experimentos em 16 dias de processo.....	100
Tabela 4.19 - Resultados de concentração SSV em função do tempo de processo para os diferentes experimentos	104
Tabela 4.20 - Partida do reator UASB	106
Tabela 4.21 - Resultados da segunda etapa de preenchimento de todo o volume útil do reator UASB	108
Tabela 4.22 - Resultados de remoções de DQO e de biodiesel e seus desvios, em reator UASB	109
Tabela A.1 - Valores referências de carbono orgânico total (COT) de cada solução de biftalato de potássio e suas respectivas absorbâncias em 600 nm para construção da curva de calibração	131

RESUMO

A geração de efluente contaminado por biodiesel tem sido crescente devido à busca por combustíveis renováveis. O tratamento biológico anaeróbio tem sido bastante empregado para efluentes e foi adotado neste estudo. Inicialmente foram realizados experimentos com a cultura mista facultativa (C1) advinda de lagoa contaminada por óleo diesel e gasolina. Essa cultura foi inicialmente adaptada em efluente sintético contaminado com biodiesel sob condição de aeração intermitente nas concentrações de biodiesel de 2,5, 5,0, 10,0, 20,0 e 50,0 g/L. O processo sob condições anaeróbias foram desenvolvidos em frascos de penicilina de capacidade de 100 mL hermeticamente vedados e com sistema de captura de gases gerados, com concentração de 5 g/L de biodiesel. Nesta condição foi avaliado o efeito da preparação do inóculo no processo de biodegradação. Os resultados mostraram, que independente da condição de preparo do inóculo (sob condição aeração intermitente ou anaeróbio) a remoção máxima de biodiesel obtida em 14 dias de processo foi superior a 85%. Lodo anaeróbio (C2) foi empregado nos estudos, este foi obtido de reator UASB de uma unidade de tratamento anaeróbio de efluentes de uma indústria de tabaco (Souza Cruz). O lodo C2 foi capaz de adaptar as concentrações de biodiesel de 2,5, 5,0 e 7,5 g/L, em reatores cônicos de bancada de capacidade de 500 mL, hermeticamente vedado e adaptado com sistema de coleta de gases por 16 dias de processo em mesa oscilatória a 150 rpm. Durante a adaptação deste lodo seguiu um protocolo de troca de meio em duas concentrações de bicarbonato de sódio, empregado como agente tamponante do meio. Posteriormente, foram realizados testes para este lodo para verificar o efeito da: suplementação do meio de cultivo, da relação A/M (alimento/microrganismo - DQO/SSV) e da concentração de NaHCO_3 (g HCO_3^- /gDQO) na biodegradação do biodiesel, empregando 5,0 g/L de biodiesel em reator cônicoo de bancada por 16 dias de processo. De acordo com os resultados, o experimento com suplementação de nutrientes, com relação A/M de 0,4 e 0,3 g HCO_3^- /gDQO foi a condição que apresentou maior remoção de biodiesel com aproximadamente 87% e maior produção de biogás (CH_4 com 0,889 mmol e de CO_2 de 1,308 mmol). Nesta melhor condição de processo foi realizado experimento em reator UASB de capacidade útil de 8,2 L sob condição de temperatura mesofílica na concentração de 5 g/L de biodiesel. A remoção máxima de biodiesel nesta condição foi de 74% e com produção de biogás média de $6,14 \pm 1,5$ mL/h e relação de 0,57 mmol de CH_4 para 0,250 mmol de CO_2 .

Palavras-chave: Biodiesel. Efluente. Tratamento anaeróbio

"ABSTRACT"

The generation of effluent contaminated by biodiesel has been increasing due to the search for renewable fuels. Anaerobic biological treatment has been widely used for effluents and has been adopted in this study. Initially experiments were performed with optional mixed culture (C1) from pond contaminated by diesel oil and gasoline. This culture was initially adapted in synthetic effluent contaminated with biodiesel under an intermittent aeration condition in the concentrations of biodiesel of 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 and 50.0 g / L. The process under anaerobic conditions was developed in 100 ml hermetically sealed penicillin flasks with a gas capture system, with biodiesel concentration of 5.0 g / L. In this condition, the effect of inoculum preparation was evaluated on the biodegradation process. The results showed that, regardless of the inoculum preparation condition (under intermittent or anaerobic aeration condition), the maximum biodiesel removal obtained in 14 days of the process was higher than 85%. Sludge anaerobic (C2) was used in the studies, this was obtained from a UASB reactor of an anaerobic treatment unit of effluent from a tobacco industry (Souza Cruz). The C2 sludge was able to adapt the concentrations of biodiesel from 2.5, 5.0 and 7.5 g / L, in conical reactors of 500 mL capacity, hermetically sealed and adapted with a gas collection system for 16 days of process at table oscillatory at 150 rpm. During adaptation of this sludge followed a mid-exchange protocol in predefined time intervals, an experiment was performed without exchange of medium in two concentrations of sodium bicarbonate, employed as a coagulant agent of the medium. After that, the tests were carried out to verify the effect of: supplementation of the culture medium, A/M ratio (food / microorganism-COD/SSV) and NaHCO_3 concentration ($\text{gHCO}_3^-/\text{gDQO}$) on biodiesel biodegradation, using 5.0 g / L of biodiesel in a conical bench reactor for 16 days. According to the results, the experiment with nutrient supplementation, with A/M ratio of 0.4 and 0.3 $\text{gHCO}_3^-/\text{gDQO}$ was the condition that presented the highest biodiesel removal with approximately 87% and higher biogas production (CH_4 with 0.889 mmol and CO_2 of 1.308 mmol), respectively. In this best process condition, an experiment was carried out in a UASB reactor with a capacity of 8.2 L, under the condition of mesophilic temperature in the concentration of 5.0 g / L of biodiesel. The maximum biodiesel removal in this condition was 74% and with a mean biogas production of $6.14 \pm 1.5 \text{ mL / h}$ and a ratio of 0.57 mmol of CH_4 to 0.250 mmol of CO_2 .

Keywords: Biodiesel. Effluent. Anaerobic treatment.

1 INTRODUÇÃO

O biodiesel torna-se uma boa alternativa na substituição do combustível fóssil por apresentar características semelhantes ao óleo diesel e liberar menos compostos poluentes ao meio ambiente e à saúde humana, além de possuir variadas fontes de matéria-prima presentes no território brasileiro.

O percentual de adição de biodiesel de 8% no óleo diesel (B8) está em vigor desde março de 2016 (BRASIL, 2016). O biodiesel pode ser produzido a partir de óleos vegetais, tais como óleo de soja, de milho e de mamona, mas também pode utilizar gordura animal, o sebo bovino e óleo residual utilizado em frituras. Sua produção é realizada pela reação de transesterificação com catálise ácida, básica ou enzimática (ZHANG et al., 2012).

Biodiesel ou ácidos graxos metil ou etil esterificados são compostos de baixa complexidade estrutural, contendo predominantemente oito diferentes ácidos graxos (C16-18) metil ou etil esterificados, incluindo oleato, palmitato, estearato, linoleato, mirístico, laureato e linolenato (NEWMAN, 1993 *apud* VIEIRA et al., 2006). Os ésteres metilados presentes no biodiesel possuem relativamente alto número de octanas e são considerados uma alternativa biodegradável aos compostos oxigenados recalcitrantes da gasolina (LIU e SULFITA, 1994 *apud* VIEIRA et al., 2006).

No Brasil, a produção e comercialização de biodiesel possuem importantes vantagens devido à grande disponibilidade de matéria-prima para sua produção e ao crescimento contínuo da indústria de óleos vegetais e de etanol (RIVALDI et al., 2007).

Porém, o consumo deste biocombustível é crescente, o que atrai mais investimentos em sua produção e em sua comercialização, o que pode tornar este processo mais arriscado em termos de possíveis acidentes de derramamento, podendo contaminar o solo, o ar e as fontes hídricas. A contaminação frequente por compostos químicos oriundos de combustíveis renováveis ou não pode afetar a fauna, a flora e a humanidade de forma irreversível com o passar do tempo. Isso tem direcionado pesquisadores a estudarem técnicas de recuperação e/ou tratamento das áreas afetadas (MILAZZO, 2013).

Outro ponto importante em relação à produção de biodiesel é o efluente gerado pela purificação do biodiesel na produção do mesmo, que vem se expandindo devido à grande demanda do mercado. Tal água residuária oriunda da produção de biodiesel é constituída por sabões, ácidos graxos, glicerina, catalisadores e alcoóis. Essa purificação é feita para garantir melhor qualidade do combustível renovável (GUIMARÃES; BRITO NETO; GALVÃO, 2015).

Com o risco do aumento de acidentes de derramamento de combustíveis no solo e nos recursos hídricos, e a geração do efluente oriunda da produção do próprio biodiesel, o processo de biodegradação pode ser uma técnica bastante viável para a recuperação deste meio contaminado por ser um processo muito utilizado na degradação de compostos poluentes de solos e efluentes resíduários. Este método utiliza microrganismos, tais como bactérias, leveduras e fungos no combate às contaminações, de forma que degradem parcial ou totalmente os compostos poluidores presentes. As bactérias têm desempenhado melhor eficiência na degradação por apresentarem em colônias e em conjunto, variadas funções para degradação do contaminante (ANDRADE; AUGUSTO; JARDIM, 2010; PATEL, 2017). Para melhor desempenho da técnica é necessário planejamento de forma que avalie e selecione microrganismos e condições adequados para o tratamento do solo e do efluente.

O tratamento de água resíduárias pode ser conduzido sob condições aeróbias ou anaeróbias. A técnica anaeróbica vem sendo investida por trazer menos custo em relação à aeróbica, devido à ausência de oxigênio em seu processo. O reator anaeróbio de fluxo ascendente (UASB) tem sido destaque no quesito de tratamento de efluentes devido às suas configurações, que o torna mais eficiente e econômico por apresentar melhor desempenho em condições ambientais brasileiras e operar com alta carga orgânica, além de gerar metano como fonte energética (ANDRADE, 2012).

Neste contexto, este estudo apresenta como objetivo principal avaliar o tratamento anaeróbio na biodegradação de efluente contaminado por biodiesel. Como objetivos específicos:

- adaptar a cultura mista ao efluente contendo biodiesel em condições de aeração intermitente;
- preparar inóculo de cultura mista sob condições anaeróbias;
- comparar o desempenho do processo anaeróbio em reatores cônicos de bancada empregando cultura mista facultativa advinda de: preparo em condições de aeração intermitente e anaeróbia;
- caracterizar o lodo anaeróbio por meio de sedimentabilidade, de índice volumétrico de lodo e de sólidos suspensos totais, fixos e voláteis;
- adaptar lodo anaeróbio, advindo de estação de tratamento de efluentes anaeróbio, ao efluente contendo biodiesel em reatores cônicos de bancada;
- comparar o desempenho do processo anaeróbio em reatores cônicos de bancada, empregando a cultura mista facultativa e o lodo anaeróbio;

- avaliar a carga de biodiesel que pode ser tratada pela cultura mista e pelo lodo anaeróbio;
- avaliar o tempo de biodegradação do biodiesel para ambas as culturas;
- avaliar a suplementação do meio de cultivo com micronutrientes no processo de biodegradação e geração de metano em reatores cônicos de bancada;
- avaliar o comportamento do pH na biodegradação;
- avaliar a concentração de bicarbonato de sódio no processo empregando reatores cônicos de bancada;
- avaliar a alcalinidade de bicarbonato e alcalinidade de ácidos durante o processo de degradação biológica a fim de verificar a estabilidade do sistema para produção de biogás;
- avaliar a relação alimento/microrganismo (A/M) em reatores cônicos de bancada;
- estudar a biodegradação do biodiesel por meio de DQO e quantificação de ésteres por cromatografia gasosa;
- quantificar a vazão de biogás produzido e identificar a composição do mesmo por meio de cromatografia gasosa;
- avaliar o tratamento do efluente sintético contaminado por biodiesel em reator UASB com as melhores condições de operação obtidas em reatores cônicos.

A apresentação do presente trabalho será dividida em introdução, revisão bibliográfica, material e métodos em seguida resultados e discussões, por fim conclusão, sugestões para trabalhos futuros e referências bibliográficas utilizadas na pesquisa.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIODIESEL E SUAS CARACTERÍSTICAS DE PRODUÇÃO

Apesar de o biodiesel ser uma boa alternativa na substituição do petróleo por apresentar características semelhantes ao óleo diesel e liberar menos compostos poluentes ao meio ambiente e à saúde humana, possuir variadas fonte de matéria-prima e geração de emprego, sua manipulação e distribuição pode ocasionar acidentes de derramamento e vazamento e com isso contaminar o solo, o ar e a água. Assim, os efluentes contaminados por biocombustível devido à prática de lavagem de caminhões transportadores de biocombustíveis e dos pátios podem contribuir ainda mais para a contaminação do meio ambiente. Com a grande demanda de combustível, há necessidade de maior controle dos tanques de armazenagens presentes nas distribuidoras de combustíveis e nos tanques de postos revendedores (ANDRADE, 2005; VIEIRA *et al.*, 2009).

A partir da Lei N°11.097, de 13 de janeiro de 2005, o biodiesel foi lançado na matriz energética brasileira e a Agência Nacional do Petróleo (ANP) tornou-se responsável por todas as atividades envolvendo biocombustível e passa a denominar Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível. Somente em 2008, foi estabelecida a primeira adição obrigatória de 2% de biodiesel (B2) no óleo diesel (BRASIL, 2015; KUSS, 2015).

Em março de 2016 foi sancionada a Lei N°. 13263, a qual estabelece que a adição de biodiesel seja 8, 9 e 10% para o ano de 2017, 2018 e 2019, respectivamente (BRASIL, 2017). Para ter uma ideia, em 2013 sua produção aumentou de 2,9 bilhões de litros para 7,9 bilhões de litros (MANZONI e BARROS, 2015; BRASIL, 2014).

A utilização do biodiesel apresenta diversas vantagens, tais como ação lubrificante dos motores, biodegradabilidade (moléculas mais simples do que o óleo diesel), renovabilidade, atoxicidade e em sua combustão não libera gases maléficos à saúde humana e ao ecossistema, com isso a produção tende a expandir a cada ano no mundo, mais especificamente no Brasil, Estados Unidos, países europeus e asiáticos, como Índia e Tailândia (ŽIVKOVIĆ *et al.*, 2017; OLIVEIRA;COELHO, 2017).

Atualmente, de acordo com o boletim de fevereiro de 2017 da Agência Nacional de Petróleo, existem 51 plantas produtoras de biodiesel. Há três plantas autorizadas para construção e três plantas autorizadas para aumentarem sua capacidade de produção (PINTO, 2017).

A matéria-prima utilizada para a produção do biodiesel, denominada biomassa renovável, de origem vegetal, são óleos de soja, de mamona, de palma, entre outros. As de origem animal são o sebo bovino e o sebo de aves. Pela Tabela 2.1 pode verificar que as matérias-primas mais utilizadas no território brasileiro são o óleo de soja e a gordura bovina. Outra matéria-prima utilizada na produção do biodiesel é o óleo residual gerado no uso doméstico ou de empresas alimentícias.

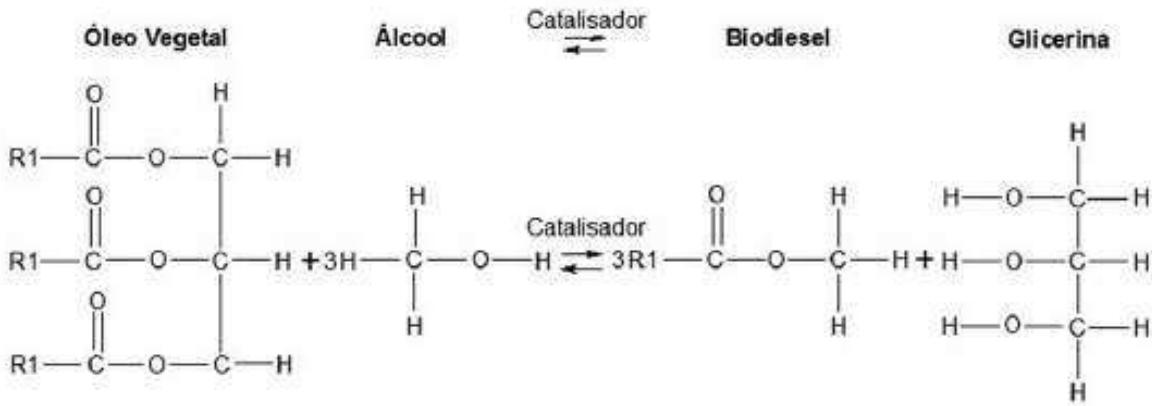
Tabela 2.1- Matérias-primas utilizadas para a produção de biodiesel no Brasil

Matéria-prima	Região				
	Norte	Nordeste	Centro-Oeste	Sudeste	Sul
Óleo de soja		47,02%	75,65%	26,72%	65,35%
Gordura bovina	100%	20,61%	4,07%	52,34%	18,59%
Óleo de algodão		5,77%			
Outros materiais graxos		7,08%	20,05%	1,37%	2,82%
Óleo de fritura usado		0,03%	0,12%	7,26%	0,14%
Gordura de porco			0,09%	0,01%	9,72%
Gordura de frango			0,02%	1,18%	1,05%
Óleo de palma /Dendê	19,49%		0%	11,11%	
Óleo de Colza/Canola					2,34%

Fonte - PINTO, 2017

A produção do biodiesel ocorre pela reação de transesterificação (Figura 2.1), na qual o óleo ou gordura (triglicerídeos) reage com um álcool, geralmente o metanol ou etanol, por catálise ácida, básica ou enzimática formando éster e glicerol. A catálise alcalina é a mais utilizada industrialmente devido ao menor custo. Após a transesterificação, realiza-se o processo de separação de fases, assim obtém-se o álcool desidratado e recuperado, a glicerina e o biodiesel puro. Os catalisadores mais utilizados são hidróxido de sódio ou potássio, ácido sulfúrico ou fosfórico (OLIVEIRA, 2008).

Figura 2.1 - Reação de transesterificação por catálise



Fonte - Palomiro-Romero et al, 2012

Durante o processo de produção do biodiesel, ele passa pela etapa de purificação por via úmida (lavagem com água) ou via seca (utilização de adsorventes, como por exemplo, sílica gel) para remover todas as impurezas, tais como catalisadores, alcoóis, sabões, glicerol ou glicerina. Mas o método de purificação por via úmida é o mais utilizado pelas indústrias, no qual ocorre a geração de efluente (FACCINI, 2008).

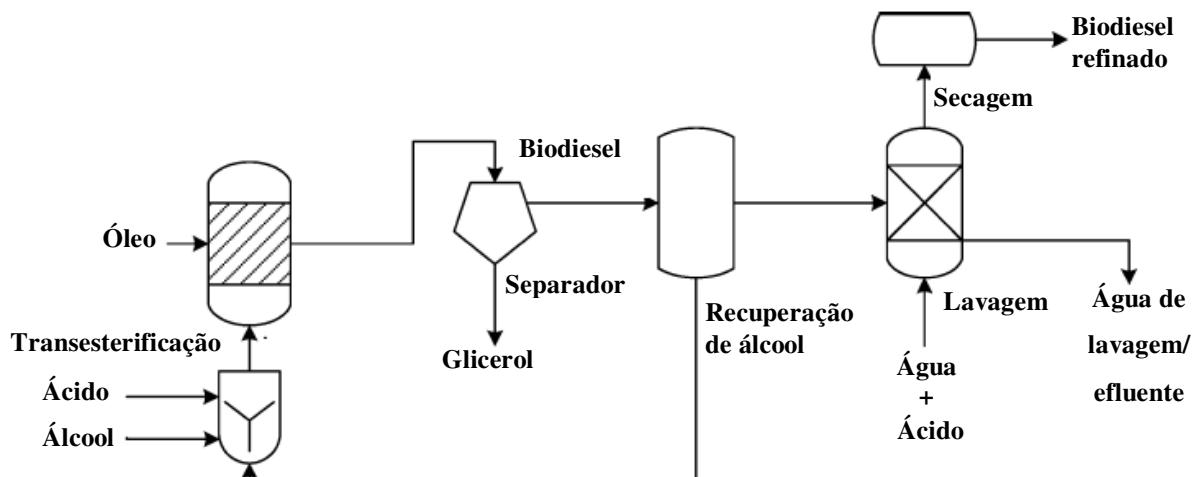
A geração de efluente contaminado por biodiesel ocorre da seguinte maneira:

a) Efluente gerado da produção de biodiesel

No processo de produção de biodiesel há também a geração de efluente devido à necessidade de remoção do excesso de contaminantes e impurezas para assegurar que apenas o biodiesel de alta qualidade seja obtido dentro dos padrões internacionais de produção (NGAMLERDPOKIN et al., 2011; ATADASHI et al., 2012). Nesta etapa de purificação são removidos resíduos como: catalisador, glicerol livre, ácidos graxos, sólidos suspensos, sabões, metanol e entre outros. Este fato é bastante preocupante diante da grande demanda de biodiesel no mercado e que desperta busca por melhorias nas técnicas de tratamento do líquido contaminado a fim de recuperar e reutilizar a água no processo de produção do mesmo (SUEHARA et al., 2005; MENESSES et al. 2012).

Essa lavagem do biodiesel com água pode ser repetida de acordo com a quantidade de resíduos presentes no mesmo, tal lavagem pode ser, por exemplo, de duas a cinco vezes gerando de 20 a 120 litros de efluente a cada 100 litros de biodiesel produzido (STIDHAM; SEAMAN; DANZER, 1995; CHAVALPARIT; ONGWANDEE, 2009 *apud* PALOMIRO-HOMERO et al., 2012). A Figura 2.2 mostra a origem da água de lavagem do processo convencional de transesterificação para a produção de biodiesel (DAUD et al, 2015).

Figura 2.2 - Diagrama de fluxo de processo do processo convencional de transesterificação



Fonte - DAUD et al., 2015

b) Efluente gerado da lavagem de solo contaminado por biodiesel

Antes de realizar a biorremediação do solo contaminado com biodiesel, pode ser feito a lavagem do solo para retirar o excesso de contaminante, a fim de facilitar o processo de biodegradação. A quantidade de lavagem feita dependerá da quantidade de resíduo presente no solo. A água para lavagem do solo pode ser água de reuso ou de rede de distribuição. O efluente gerado pela lavagem pode conter fósforo, nitrogênio, biodiesel e carbono (oriundo do solo), pode apresentar pH próximo à neutralidade. A quantidade desses nutrientes pode variar conforme o tipo do solo e o manuseio do mesmo (se é utilizado ou não para plantio ou pastagem) e também pode ser influenciado pela quantidade de contaminante (RAMINHO, 2015).

Os processos de tratamento da água de lavagem gerada na produção de biodiesel relatados na literatura são: coagulação (NGAMLERDPOKIN et al., 2011; KUMJADPAI et al., 2011), eletrocoagulação (SRIRANGSAN; CHAVALPARIT, 2009; CHAVALPARIT; ONGWANDEE, 2009), processos biológicos (SUEHARA et al., 2005) e adsorção (PITAKPOOLSIL; HUNSOM, 2013).

2.2 PROCESSOS DE BIODEGRADAÇÃO

A biodegradação consiste na degradação microbiológica de compostos orgânicos complexos, como carboidrato, lipídios e proteínas em moléculas mais simples. O produto formado pode variar conforme o processo de biodegradação adotado. Esses compostos orgânicos complexos podem ser degradados pela união de microrganismos heterogêneos, os

quais podem ser bactérias e fungos, porém as bactérias predominam nos tratamentos biológicos (DEZOTTI, 2008).

A determinação do melhor tratamento dependerá do seu custo e dos objetivos propostos e a verificação dos tipos de tratamentos existentes, os quais podem ser tratamentos físicos, físico-químicos e biológicos. Os tratamentos físicos se caracterizam por um tratamento primário que consiste na remoção de sólidos em suspensão por sedimentação ou flotação. O processo biológico é aplicado quando o objetivo do tratamento é a remoção de matéria orgânica sendo ela o poluente principal presente na água residuária. Tal tratamento é bastante utilizado devido ao seu baixo custo comparado aos tratamentos físico-químicos. Já os processos físico-químicos são utilizados na presença de contaminantes inorgânicos e orgânicos de difícil degradação em que o processo biológico não é eficaz. Os métodos utilizados neste tratamento são floculação e coagulação (LIMA et al, 2001).

O processo anaeróbio de substâncias biodegradáveis ocorre pela fermentação microbiana na ausência de oxigênio e por fim, tais substâncias são transformadas em biogás (gás metano e gás carbônico). O gás metano pode ser utilizado como fontes energéticas, sendo um diferencial em relação ao tratamento aeróbio (LIMA et al, 2001).

2.2.1 Vantagens e desvantagens do tratamento anaeróbio em relação ao tratamento aeróbio

As vantagens e desvantagens do tratamento anaeróbio de efluente conforme Sant'anna Junior (2013) e Chernicharo (2007).

Vantagens da digestão anaeróbia:

- Dispensa a utilização de aeração;
- Sistema compacto;
- Baixo custo de operação e implantação;
- Produz menor quantidade de biomassa;
- Menor consumo de energia;
- Consome menor quantidade de nutrientes de fonte de fósforo e nitrogênio;
- Biomassa pode ser mantida no reator por longo período sem perder sua capacidade de degradação;
- Produção de biogás que pode ser utilizado como fonte energética.

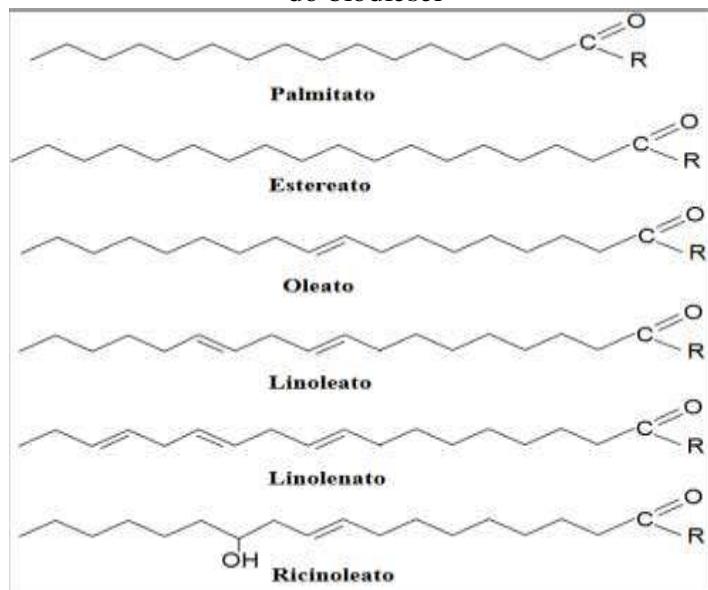
Desvantagens:

- É sensível a substâncias tóxicas e inibidores;
- Remoção de DQO não é alta, dependendo do efluente exige um pré ou pós-tratamento físico-químico para atingir melhor remoção de DQO;
- Geração de maus odores;
- Tempo de partida lenta;
- Proteção contra corrosão;
- E pode necessitar de longo tempo de operação.

2.2.2 Biodegradação do biodiesel

O biodiesel é de fácil degradação comparado ao óleo diesel devido a sua estrutura molecular de baixa complexidade. Ela é formada por oito diferentes ácidos graxos (C16-C18) metil ou etil esterificados (Figura 2.3) incluindo oleato, palmitato, estearato, linolenato, laureato, linoleato, ricinoleato e mirístico, tais ésteres são líquidos viscosos e não apresentam polaridade. Sua estrutura é isenta de enxofre e de moléculas aromáticas, além disso, possui propriedade higroscópica (GOMES, 2008). Sua estrutura molecular é bastante sensível à alta temperatura, a luz, hidrólise e oxidação, devido as presentes ligações duplas, que podem levar a desestabilização das mesmas ocasionando sua oxidação pelo oxigênio do ar (SCHULTZ, 2010).

Figura .2.3 - Fórmula estrutural dos principais ésteres alquílicos de ácidos graxos constituintes do biodiesel



Fonte - GOMES, 2008

A degradação microbiana do biodiesel consiste na clivagem do metil ou etil éster por uma esterase que gera ácidos graxos e álcool e a quebra dos ácidos graxos no ciclo de Krebs. As principais bactérias que podem degradar o biodiesel são: *Pseudomonas oleovorans*, *P. mendocina*, *P. aeruginosa*, *Marinomonas vaga*, *Escherichia coli*, *Burkholderia gladioli*, *B. cepacia* e *Bacillus subtilis* (MANCERA-LOPEZ, 2008).

Vários trabalhos científicos têm abordado sobre o tratamento de efluente contaminado por biodiesel. Selma et al (2010) estudou a aplicação de reatores anaeróbios de batelada sequencial (ASBR) no tratamento de efluente oriundo da produção de biodiesel avaliando o efeito da carga orgânica e tempo de preenchimento sobre o desempenho e produção de metano. A remoção de matéria orgânica foi de 93%, 81% e 66% para a concentração de afluente de 500, 1000 e 2000 mg DQO/L (0,6, 1,29 e 2,44 g DQO/L.d), respectivamente. A eficiência de remoção foi melhorada ao aumentar o tempo de preenchimento e foi de 85% para a condição de 1000 mg DQO/L e tempos de preenchimento de 2 e 4 h, e 80 e 77% para a condição de 2000 mg DQO/L e tempos de preenchimento de 2 e 4 h, respectivamente. Assim, a alimentação gradual pareceu melhorar e suavizar os perfis de matéria orgânica e ácidos voláteis ao longo do ciclo com 78 a 96 NmL CH₄/g DQO.

Suehara et al (2005) pesquisaram o emprego da levedura *Rhodotorula mucilaginosa* para degradar o biodiesel presente em águas de lavagem da purificação de biodiesel. Após diversos testes, as condições ótimas para a cultura e o crescimento desta levedura foram determinadas, sendo estas: pH 6,8, concentração inicial de levedura de 1 g/L, o emprego de uréia como fonte de nitrogênio em vez de sulfato de amônio ou cloreto de amônio e, uma relação de C/N entre 17 e 68 (peso do carbono presente no óleo extraído com hexano em relação ao peso do nitrogênio adicionado como ureia).

Bedor et al (2015) avaliaram a suplementação de macro e micronutrientes no tratamento de efluente da produção de biodiesel. O tratamento biológico anaeróbio foi avaliado após um tratamento físico-químico (coagulação/flotação e flotação), necessário para remoção de óleos e graxas e material coloidal. Diferentes condições de suplementação foram avaliadas na etapa biológica, sendo a suplementação com 2,8 g/L NH₄Cl, 0,6 g/L KH₂PO₄ e 1,0 mL/L micronutrientes a que apresentou maior remoção de demanda química de oxigênio – DQO (98%) e produção específica de metano (268,8 mL CH₄/g DQO removida). Esta condição foi selecionada para a operação de reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB).

Queiroz et al (2016) investigaram e avaliaram o potencial de produção de biogás a partir do tratamento anaeróbio de água residuária gerada na produção de biodiesel. Estes

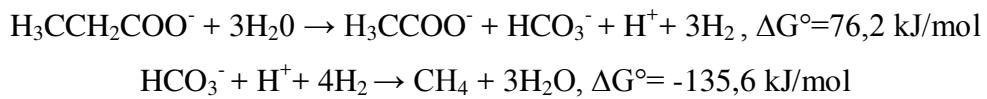
autores investigaram e avaliaram aspectos da produção de biogás por meio da digestão anaeróbia da água resíduária gerada na produção de biodiesel em uma Usina de biodiesel localizada na cidade de Candeias, Bahia, Brasil. A biodegradabilidade anaeróbia foi determinada seguindo a metodologia de monitoramento do consumo de matéria orgânica, durante 28 dias, respeitando relações alimento/microrganismos (A/M) pré-estabelecidas. Os resultados mostraram que, para a degradação anaeróbia do efluente da indústria de biodiesel, observou-se uma curta etapa de adaptação dos microrganismos. Após essa etapa de adaptação, alcançaram-se eficiências de remoção de substrato superiores a 90% e obteve-se uma produção líquida de biogás igual a 114 mL, para uma concentração inicial de DQO igual a 800 mg/L, respeitando relação A/M igual a 0,25.

2.2.3 FASES DA DIGESTÃO ANAERÓBIA

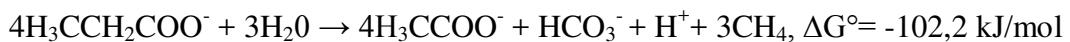
O lodo utilizado na digestão anaeróbia é um conjunto microbiano que pode ser denominado de cultura mista, a qual atua em diferentes funções para a degradação da matéria orgânica. Tal cultura é formada por diferentes gêneros como *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium* e *Lactobacillus* (Sant'anna Junior, 2013).

O ciclo metabólico do lodo durante o processo de biodegradação passa por quatro ou cinco fases (Chernicharo, 2007 e Sant'anna Junior, 2013):

- Fase Hidrolítica: Nesta etapa as bactérias hidrolíticas fermentativas transformam substância de cadeia molecular longa (macromoléculas), como proteínas, polissacarídeos e ácidos nucléicos, em compostos orgânicos mais simples (aminoácidos, glicerol, ácidos orgânicos, purinas e etc) (HAANDEL; LETTINGA, 1994).
- Fase Acidogênica ou ácida: Os compostos hidrolisados na etapa anterior são fermentados pelas bactérias acidogênicas gerando ácidos orgânicos, tais como ácido acético, propiônico, butírico, valérico, metilpentanóico e hexanóico.
- Fase Acetogênica: Essa fase é fundamental para o tratamento anaeróbio, pois nessa etapa as bactérias acetogênicas, anaeróbias estritas, transformam os ácidos orgânicos em acetatos, dióxido de carbono e hidrogênio. O gênero de bactérias principais nesta etapa são *Syntrobacter* e *Syntrophomonas*. A produção de acetato ocorre pela produção de hidrogênio por reação sintrófica, como por exemplo, o propianato interagindo com 3 moléculas de água forma um acetato. Com a ação das arqueas metanogênica o acetato é transformado em metano.



Para que haja formação de metano é necessário o consumo do hidrogênio gasoso e deslocamento do equilíbrio da reação para a direita. Ou seja, as bactérias acetogênicas produtoras de hidrogênio produzem hidrogênio, dióxido de carbono e acetato e as acetogênicas consumidoras de hidrogênio (bactérias homoacetogênicas) consomem hidrogênio e dióxido de carbono para sintetizar o acetato que por sua vez, o acetato é transformado em metano pela arquea metanogênica (SANT'ANNA JUNIOR, 2013; CHERNICHARO, 2007).



- Fase metanogênica: nessa fase o grupo das bactérias hidrogenotróficas (bactérias metanogênicas consumidoras de hidrogênio) produz metano pela oxidação de hidrogênio na presença de dióxido de carbono. E o grupo das bactérias metanogênicas acetoclásticas, as quais produzem o biogás a partir de acetato ou metanol. As bactérias acetoclásticas são responsáveis por 70% da produção do metano e as hidrogenotróficas comandam os 30% restante. Porém, somente as espécies *Methanosarcina* e *Methanotrix* são capazes de transformar ácido acético em biogás (ANDREOLI; VON SPERLING; FERNANDES, 2001).

As bactérias metanogênicas podem apresentar diferentes morfologias como cocos, filamentos, bastonetes e as mais comuns encontradas em reatores anaeróbios são as *Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanobrevibacter*, *Methanosarcina*, *Methanospirillum* e *Methanotrix* (SANT'ANNA JUNIOR, 2013).

A fase metanogênica é fundamental e comanda a digestão anaeróbia de água residuária, pois as bactérias metanogênicas é que são capazes de produzir o biogás. Na ausência ou na baixa produção de biogás, a degradação do contaminante no efluente é insatisfatória. Porém, essa fase é bastante lenta e sensível às mudanças nas condições do sistema. Alguns dos fatores que podem afetar essa fase são pH, temperatura, relação alimento/microrganismo e nutrientes. Assim, deve ser estudado e avaliado as condições de operação adequadas para cada tipo de efluente e microrganismos (CARLOS-HERNÁNDEZ et. al, 2014)

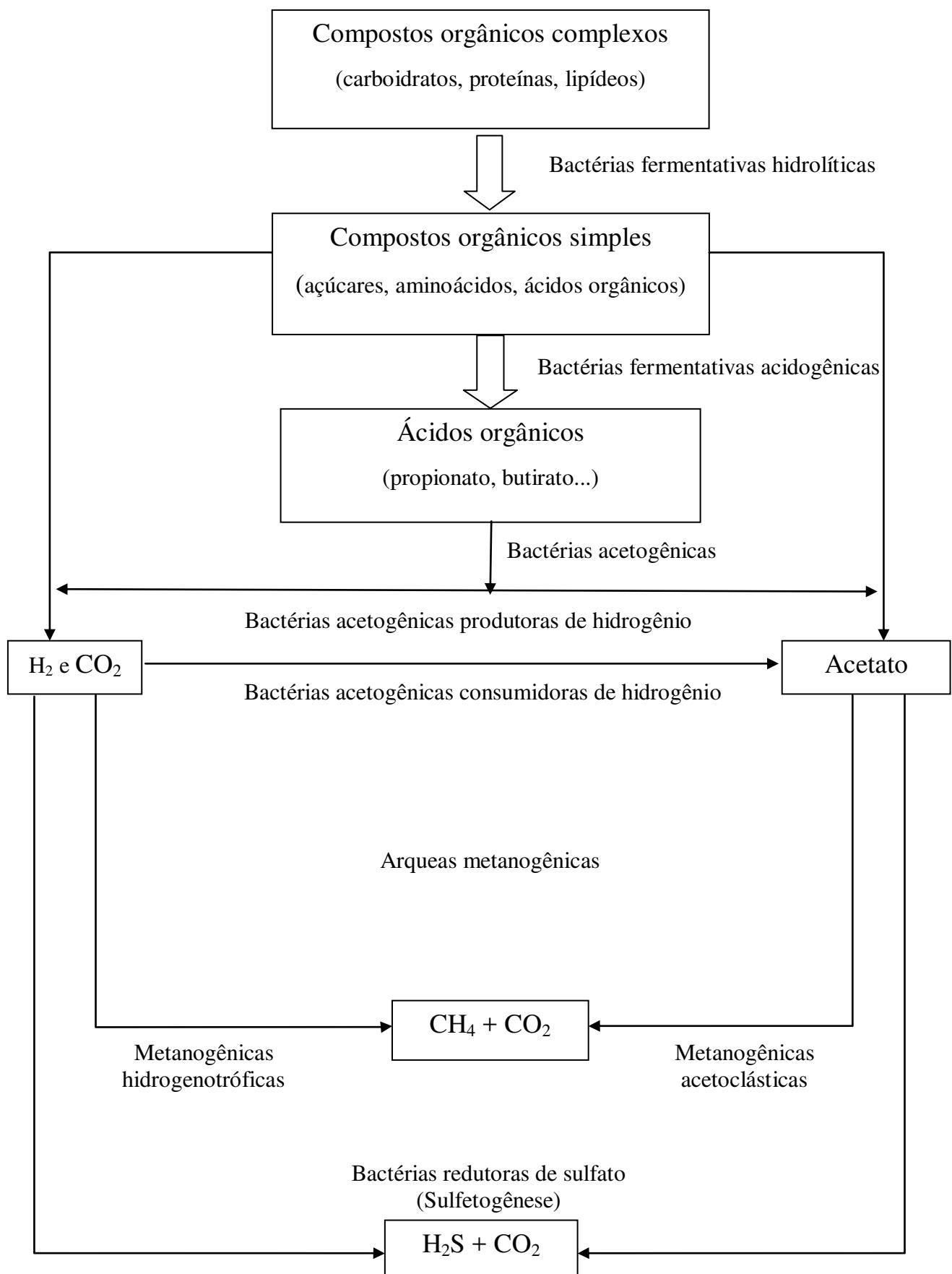
Se quantidade de bactérias presentes nas arqueas metanogênicas no interior do digestor estiver equilibrada, assim como as condições ambientais favoráveis ao sistema, a taxa de consumo de ácidos voláteis no interior do reator será proporcional à taxa de produção dos mesmos e consequentemente a produção de metano. Pois as bactérias hydrogenotróficas (consumidora de hidrogênio) controlam o pH (6,0 a 7,5) e reduzem a pressão parcial de hidrogênio do meio favorecendo as fases acidogênica e a acetogênica. Havendo desequilíbrio nas arqueas e nas condições do sistema (interação entre o meio e as bactérias digestoras) a taxa de consumo dos ácidos voláteis pelas arqueas metanogêneses será menor que a taxa de produção dos mesmos pelas acidogêneses. Assim, a taxa de acúmulo de ácidos voláteis no meio aumentará provocando a queda do pH dentro do reator, pois os ácidos voláteis em excesso reagiram com a alcalinidade inibindo o efeito tampão do meio e reduzindo o pH. E consequentemente resultará na baixa remoção de DQO e baixa produção de metano, devido à acidificação do sistema que inibe a ação das bactérias acetogêneses e as metanogênicas. O gás metano produzido pode ser separado do meio líquido por apresentar baixa solubilidade em água e o dióxido de carbono por ser mais solúvel em água, parte dele pode ser eliminado no efluente tratado e a outra parte pela saída de gás do separador trifásico (ARAUJO, 2002; ANDREOLI; VON SPERLING; FERNANDES, 2001).

Para Andreoli, Von Sperling e Fernandes (2001), o biogás produzido no reator biológico é constituído por dióxido de carbono, metano e baixa concentração de nitrogênio, oxigênio, ácido sulfídrico e hidrocarbonetos voláteis. E em reatores biológicos alimentados, a estimativa da produção de biogás é de 0,8 m³/kg de sólido orgânicos voláteis destruídos.

- **Sulfetogênese:** Essa fase existirá na presença de enxofre ou sulfato no efluente a ser tratado pela ação das bactérias redutoras de sulfato. Essas bactérias competem com arqueas metanogênicas, pois elas consomem os produtos das fases acidogênese e acetogênese produzindo dióxido de carbono e ácido sulfídrico. Dependendo das condições do sistema, como por exemplo, baixo pH e grande quantidade de sulfato no meio, as bactérias redutoras de sulfato podem inibir a ação das metanogênicas e impedir a produção de metano (ANDREOLI; VON SPERLING; FERNANDES, 2001; ARAUJO, 2002).

Pela Figura 2.4, a seguir, pode ser acompanhado as rotas metabólicas dos grupos microbianos presentes na digestão anaeróbia.

Figura 2.4 - Ciclo metabólico da digestão anaeróbia



Os possíveis controles que podem ser feitos para evitar que o sistema entre em colapso é adequar a quantidade de alimento (matéria orgânica) alimentado em relação à concentração de biomassa, manter pH neutro ou próximo a neutralidade (7,0 a 7,2), alcalinidade entre 4000-5000 mg/L, concentração de ácidos voláteis abaixo de 200 mg/L, verificar sempre o sistema mecânico da unidade, se possível a troca de meio para evitar que as substâncias tóxicas inibam a metanogênese e também, adição de lodo anaeróbio externo que esteja operando em condições estáveis (AQUINO, 2007; ANDREOLI; VON SPERLING; FERNANDES, 2001).

2.2.4 Fatores externos que afetam a digestão anaeróbia

Os fatores ambientais e nutricionais são de extrema importância para o bom funcionamento da digestão anaeróbia, devido ao conjunto de bactérias responsáveis pela degradação da matéria orgânica e a formação de metano, sendo necessário o controle das variáveis pH, temperatura, alcalinidade, nutrientes e inibidores (MARTINS, 2000).

- *Influência da temperatura*

A faixa de temperatura indicada para melhor digestão anaeróbia é de 20 a 42°C, mais conhecida como faixa mesofílica. Porém 35°C é a temperatura de operação ideal, na qual há crescimento máximo dos microrganismos. Sendo uma faixa bastante favorável às condições ambientais no Brasil, excluído a necessidade de energia para aquecimento ou resfriamento do sistema (HAANDEL; LETTINGA, 1994). Há também a faixa termofílica (50 a 65°C). Porém, diante a estudos realizados a mesofílica ainda é considerada a melhor condição de temperatura, pois mesmo que na fase termofílica ocorra o tratamento anaeróbio em menor tempo do que na fase mesofílica, ela apresenta desvantagem por exigir maior gasto energético para a operação (SANT'ANNA JUNIOR, 2013; VON SPERLING, 1997).

Como os microrganismos não possuem capacidade de controlar sua temperatura interna, a temperatura externa será a mesma no interior celular microbiano. Por isso a importância do controle desta variável (MARTINS, 2000).

- *Influência da alcalinidade, pH e ácidos voláteis*

O pH ótimo para o processo anaeróbio dependerá do tipo de microrganismo e do tipo de substrato, mas a faixa ideal para o bom desenvolvimento das arqueas metanogênicas é entre 6,6 a 7,4 podendo estender até 8,0 (CHERNICHARO, 1997 e 2007).

As bactérias metanogênicas são muito sensíveis às mudanças das condições operacionais, principalmente em relação ao pH. Tanto em pH abaixo quanto a acima da faixa desejável pode inibir parcialmente ou totalmente a ação das bactérias metanogênicas e, consequentemente, baixa produção de metano. A redução do pH do meio é causada pela formação de ácidos na fase acidogênica, principalmente quando há desequilíbrio no sistema e a taxa de produção de ácidos é maior que a taxa de consumo dos mesmos. As bactérias acidogênicas crescem na faixa de pH 5,0 a 6,0 ou inferior a essa faixa, assim se o sistema estiver com pH abaixo da neutralidade favorece apenas a fase acidogênese e inibe a metanogênese. Por isso a importância de seu controle (SANT'NNA JUNIOR, 2013; HAANDEL; LETTINGA, 1994; SOUZA, 1984).

Controlando a quantidade de substrato e de microrganismos no sistema de tratamento anaeróbio haverá um equilíbrio natural do fator pH. O controle natural do pH do meio é realizado pela conversão de ácidos voláteis intermediários, os quais podem levar à formação de bicarbonato e metano. E pela conversão de proteínas e aminoácidos com formação de amônia (NH_4^+) que ao interagir com ácido carbônico gera bicarbonato de amônia.

Para garantir a estabilidade do pH na faixa adequada para todas as fases do ciclo metabólico, principalmente a acetogênica e a metanogênica, durante toda a operação anaeróbia, adiciona-se uma solução ou reagente químico com característica tamponante, o qual é formado pela reação entre uma base forte e um ácido fraco.

Em processo anaeróbio o pH é muito influenciado pela presença de gás carbônico e ácidos voláteis. O gás carbônico pode influenciar no pH se houver desequilíbrio entre dióxido de carbono dissolvido em meio líquido e o CO_2 gasoso. Para verificar a quantidade de CO_2 em meio líquido pode-se utilizar a equação de Henry. A relação entre pH e alcalinidade pode ser analisado pela Equação 1(CHERNICHARO, 1997).

$$pH = pK_1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} \quad (1)$$

Na qual,

$$pK_1 = -\log \frac{1}{K_1}$$

K_1 é a constante de ionização aparente ($4,45 \times 10^{-7}$) indica a quantidade total de CO_2 dissolvido em meio líquido.

$[\text{H}_2\text{CO}_3] = [\text{CO}_2]$ em meio líquido obtida pela equação de Henry.

Com a adição de um tamponante no meio, a alcalinidade do meio tem o papel de neutralizar os ácidos voláteis formados e, em caso de excesso, de ácidos voláteis.

De acordo com Chernicharo (2007) a alcalinidade de bicarbonato é convertida em alcalinidade de ácidos voláteis, pois os ácidos voláteis são mais fortes que os bicarbonatos. Entretanto, o tamponamento ou neutralização da alcalinidade de ácidos voláteis ocorre na faixa de pH entre 3,75 a 5,75. Portanto, a suplementação de alcalinidade de bicarbonato torna-se mais importante ou mais necessária do que a suplementação da alcalinidade de ácidos voláteis.

A suplementação, assim como a manutenção da alcalinidade dependerá das características do afluente, principalmente de seu pH, da alcalinidade inicial e final do processo. Então, faz-se necessário testes para verificar as melhores opções de ajuste do pH e seu custo.

A suplementação de alcalinidade pode ser feita por produtos químicos que forneçam alcalinidade bicarbonato diretamente (NaOH , NaHCO_3 e NH_4HCO_3) e por produtos que reajam com gás carbônico para formação de bicarbonato (CaO , Ca(OH)_2 , NH_3). O bicarbonato de sódio é o mais indicado apesar de seu alto valor, pois ele é solúvel, atua diretamente como tamponante, é de fácil manuseio e não eleva o pH bruscamente em caso de excesso do mesmo. O uso de amônia não é aconselhado, pois o efluente pode ficar com excesso de amônia e ser tóxico para a biomassa, apesar de ser mais barato. A cal apresenta menor custo, possui baixa capacidade de dissolver, pode gerar precipitado e causar incrustações e entupimento do sistema, além disso, ela precisa da presença de CO_2 gasoso para a formação do bicarbonato, cujo excesso pode elevar muito o pH e prejudicar o processo (CHERNICHARO, 2007).

A avaliação da alcalinidade no decorrer do processo anaeróbio é mais importante do que a do pH, pois constatando o abaixamento do pH pode-se indicar o consumo alto de alcalinidade bicarbonato e assim reduzir a capacidade de tamponamento do meio.

A alcalinidade de ácidos voláteis e alcalinidade bicarbonato podem ser determinadas por titulação em duas etapas. A metodologia pode ser encontrada na literatura como, por exemplo, Chernicharo (2007).

Na primeira titulação obtém-se a alcalinidade parcial ou alcalinidade de bicarbonato (AP). A segunda titulação fornece alcalinidade intermediária ou alcalinidade volátil (AI).

Determinando os valores de AP e AI faz a relação AI/AP. Valores de AI/AP maiores que 0,3 indicarão distúrbio no processo de digestão anaeróbio, mas isso dependerá de cada caso em estudo (CHERNICHARO, 1997 e 2007).

Valores menores que 0,3 indicam boas condições de operação e valores entre 0,3 e 0,5 indicam aumento de ácido voláteis no meio e necessitam de controle operacional. A alcalinidade do meio é consumida pelos ácidos voláteis e ocorre a liberação de mais CO₂ do que metano quando a relação de ácidos voláteis por alcalinidade de bicarbonato atinge valores entre 0,5 e 0,8. Valores maiores que 0,8 indicam que o meio está acidificado (pH abaixo de 6,5) inibindo a produção de metano e o processo entra em colapso. O colapso no sistema pode ser provocado pela alta concentração de ácidos voláteis produzidos pelas bactérias acidogêneses, que acidificam o meio e reduz ou inibe a ação das bactérias acetogêneses e metanogêneses, prejudicando a degradação da matéria orgânica e afetando a produção de metano (ANDREOLI; VON SPERLING; FERNANDES, 2001 e ARAUJO, 2002).

- *Inibidores*

A inibição ocorre pela alta concentração de compostos tóxicos. Ela pode ser causada pela presença de cátion, por amônia, por sulfeto e metais pesados.

A toxicidade de sais está associada ao cátion como sódio, amônio, potássio, cálcio e magnésio. Na presença de inibição por cátion no efluente, a inibição pode ser reduzida pela adição de sais de cloreto com íon antagônico como sódio e potássio com faixa de concentração entre 100-200mg/L e 200-400 mg/L, respectivamente (SOUZA, 1984).

A toxicidade por amônia ocorre em efluente com alta concentração de ureia. Nesse efluente há geração de bicarbonato de amônia, o qual em concentração de 50-200 mg/L é benéfico para a digestão anaeróbia como fonte de nitrogênio e como agente tamponante. Porém, a alta concentração de íon amônia (NH₄⁺) e de amônia livre (NH₃) pode ocorrer inibição para pH 7,4-7,6. A inibição por nitrogênio ocorre na faixa entre 1500-3000 mg/L e acima de 3000 mg/L são muito tóxicos (ANDREOLI; VON SPERLING; FERNANDES, 2001).

Efluente com alta concentração de compostos a base de sulfato ocorre à redução dos sulfatos em sulfeto de hidrogênio (forma mais tóxica), o qual pode dissociar em água (HS⁻, menos tóxico) Assim, a inibição depende da concentração de sulfeto de hidrogênio. A

dissociação está associada aos parâmetros pH e temperatura. Em pH abaixo de 7, a presença de sulfeto de hidrogênio prevalece. Em pH de 7 a 14 predomina a forma dissociada (HS^-) que é menos tóxica. Além disso, o sulfeto de hidrogênio pode estar presente na fase gasosa ou dissolvido na fase líquida. A maior presença de H_2S dissolvido em meio líquido é devido à baixa produção de metano provocando à toxicidade no interior do reator. Para que haja a redução da toxicidade por H_2S o tratamento anaeróbio tem que operar em boas condições e favorecer maior produção de metano (BEDOR, 2015; CHERNICHARO, 2007).

Na toxicidade por metais pesados estão presentes os elementos inorgânicos cromo, cromato, níquel, zinco, cobre, arsênio e cianetos. Em destaque os metais pesados cobre, zinco e níquel em seu estado solúvel são bastante tóxicos. A presença de sulfetos pode ser tóxico no tratamento anaeróbio, porém, uma alternativa para a redução desses elementos do efluente. A combinação de sulfetos com os metais pesados gera sais insolúveis que não apresenta nenhum efeito adverso. Com isso, a adição de sulfeto pode contribuir no controle da toxicidade por metais pesados desde que seja utilizado a uma concentração adequada de sulfeto para que não ocorra a inibição pelo mesmo. Cerca de 1 mg/L de sulfetos (S_2^-) precipita de 1,8 a 2 mg/L de sulfeto metálico (CHERNICHARO, 2007).

- *Nutrição microbiana anaeróbia*

Para garantir melhor desempenho do lodo na digestão anaeróbia a suplementação é um dos principais fatores, pois a adequada suplementação de nutrientes ao meio de cultivo pode melhorar o crescimento microbiano e consequentemente alcançar melhor desempenho na remoção de DQO e melhor produção de metano. Os principais macronutrientes importantes na nutrição microbiana são: fósforo, enxofre, potássio, cálcio, magnésio e nitrogênio. Os principais micronutrientes são: ferro, cobalto, níquel, molibdênio, zinco, manganês, cobre e selênio (ANDREOLI; VON SPERLING; FERNANDES, 2001; VON SPERLING, 1997; CHERNICHARO, 1997 E 2007; BERTOLINO; CARVALHO; AQUINO, 2008).

Para Chernicharo (1997), os nutrientes nitrogênio, enxofre, fósforo, ferro, cobalto, níquel, molibdênio, selênio, riboflavina e vitamina B12 estimulam as bactérias metanogênicas para um bom desempenho no processo de digestão.

Uma das relações de carbono (DQO), nitrogênio e fósforo apresentada por Sant'anna Junior (2013) no tratamento anaeróbio de efluente é 350:5:1 (DQO:N:P).

2.2.5 Tipos de reatores empregados no processo de tratamento anaeróbio

O gás do pântano ou metano formado pela degradação de matéria orgânica foi descoberto por Alexandre Volta em 1778. Esse biogás era produzido desde os tempos antigos nas zonas rurais com aproveitamento de lodo e resíduos agrícolas. Até a década de 1970, a utilização de digestão anaeróbia era voltada para tratamento de efluentes de alta concentração na faixa de $DBO > 5000$ ou 10000 mg/L em lagoas ou reatores agitados. Após essa época, com constatação do alto tempo de retenção e o baixo crescimento da biomassa anaeróbia despertou nos cientistas o interesse da busca por novos reatores para reduzir o tempo de digestão anaeróbia (SANT'ANNA JUNIOR, 2013).

Os principais sistemas de tratamento anaeróbio de efluente são classificados em: sistemas convencionais e de alta taxa.

2.2.5.1 Sistemas convencionais

Caracterizam-se sistemas convencionais a utilização de reatores que operam com baixo volume de carga orgânica, nos quais não permite em seu mecanismo a retenção de grande quantidade de biomassa de elevada atividade. O funcionamento desses sistemas convencionais sofrem interferências pelas condições do meio, com isso deve-se monitorar os fatores como temperatura, pH, composição do substrato e tamanho de partícula. Pois em presença de condições instáveis, o microrganismo pode sofrer alteração em seu metabolismo e afetar todo o sistema e consequentemente necessita de mais tempo para recuperação (ARAÚJO, 2002).

Exemplo de sistemas convencionais são os digestores anaeróbios de lodo, tanques sépticos e lagoas anaeróbias.

Os tanques sépticos são tanques pré-moldados com função de sedimentação e remoção de materiais flutuantes sem agitação, com baixa carga orgânica e sem aquecimento. Esses sistemas são muito utilizados em tratamento primário de esgoto residencial e em áreas sem rede coletoras (CASSINI, 2003).

A lagoa anaeróbia é um sistema muito adotado no país para tratamento de esgoto doméstico, efluentes de frigoríficos, de laticínios e de bebidas. Tal lagoa é construída em local afastado, em grande área e ela é mantida aberta, o que resulta em maus odores e proliferação de insetos. Para seu mecanismo são exigidas grandes dimensões e elevado tempo de retenção

(tempo de operação), com isso são classificados como reatores anaeróbios de baixa carga volumétrica (SANT'ANNA JUNIOR, 2013).

Já os digestores anaeróbios de lodo podem apresentar a configuração de baixa carga com um estágio e alta carga com um ou dois estágios. Digestor de baixa carga é constituído de apenas um reator em que ocorre a digestão, impregnação do lodo e formação do sobrenadante, no final de cada digestão há remoção do sobrenadante e do lodo. Geralmente, esse tratamento é aplicado em pequenas estações de tratamento. O digestor de alta carga com único estágio trabalha com taxa de alimentação constante e é suplementado por mecanismos de agitação e aquecimento garantindo condições mais estáveis no tratamento. O digestor de dois estágios consiste na incorporação de dois tanques, o primeiro para a digestão do lodo com aquecimento e agitação e o segundo tanque é utilizado para estocar e concentrar o lodo digerido formando sobrenadante mais clarificado (CASSINI, 2003).

2.2.5.2 Sistema de alta taxa

Os sistemas de alta taxa retém alta concentração de biomassa ativada. Diante disso, esse sistema pode operar com elevado tempo de retenção e aplicação de elevada carga hidráulica.

Esse sistema de alta taxa é subdividido em dois grupos conforme o crescimento da biomassa: Sistema com crescimento bacteriano aderido e sistema com crescimento bacteriano disperso.

Em sistema com crescimento bacteriano aderido há formação de biofilmes, os quais são formados por um material inerte inserido no reator, como por exemplo, areia, cascalho, resina, PVC, casca de coco seco. E esse sistema é dividido em reator de leito fixo, leito rotatório e leito expandido (CHERNICHARO, 2007).

O reator de leito expandido possui forma cilíndrica empacotada com partículas de suporte inerte, o qual ocupa 10% do volume total do reator. Nesse sistema a biomassa cresce em filmes de crescimento de baixa espessura aderida em pequenas partículas. Esse processo reduziu o problema de limitação de difusão de substrato. Isso solucionou o problema de entupimento e aumentou o tempo de retenção de biomassa, aumentou o contato entre a biomassa e o substrato, reduzindo o tempo de retenção hidráulica (CHERNICHARO, 2007).

O mais utilizado é o sistema com crescimento bacteriano de leito fixo denominado filtro anaeróbio, constituído por material de empacotamento estacionário em que o lodo pode

aderir ou reter nas fissuras, proporcionando mais tempo de residência do microrganismo no reator e melhora no desempenho (JORDÃO; PESSÔA, 2014).

Há também o sistema de leito rotatório denominado biodisco anaeróbio. Nele o inóculo adere ao suporte inerte que possui configuração sequencial de discos e é parcial ou totalmente submerso, girando em torno do eixo horizontal num tanque em que o efluente escoa (ARAUJO, 2002).

Já o sistema com crescimento bacteriano disperso consiste da presença de flocos ou grânulos de bactérias totalmente livres. Para o bom desempenho do sistema a biomassa deve formar flocos e ter capacidade de sedimentação. Os reatores que utilizam crescimento bacteriano disperso são reatores de dois estágios (reator de contato), reator anaeróbio de chicanas, reator de fluxo ascendente e manta de lodo, reator anaeróbio de leito granular expandido e reator anaeróbio com recirculação interna (JORDÃO; PESSÔA, 2014).

Em sistemas anaeróbios a velocidade de crescimento do microrganismo é menor do que a velocidade de crescimento do microrganismo aeróbio, consequentemente a formação estrutural do flocos ou do filme é mais lenta e não uniforme, o que dificulta a separação da biomassa. Além disso, a formação de gases no interior do reator anaeróbio pode levar a formação de bolhas junto com os flocos, dificultando a separação da biomassa do meio líquido. Pois com a formação de bolhas de gases associadas ao microrganismo a biomassa torna-se menos densa que o meio líquido tratado, reduzindo sua capacidade de sedimentação (SANT'ANNA JUNIOR, 2013).

2.3 REATOR ANAERÓBIO DE FLUXO ASCENDENTE (UASB)

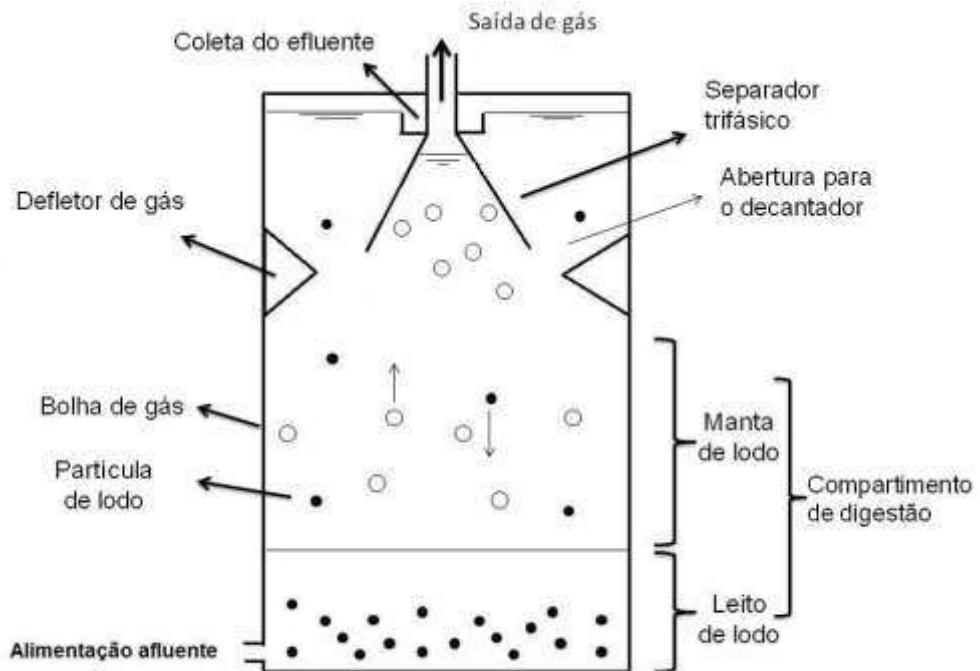
O reator anaeróbio de fluxo ascendente (UASB) foi criado por Lettinga e colaboradores em 1980. Uma das técnicas de tratamento de água residuária é a utilização do reator UASB, pois por meio deste equipamento grande parte da matéria orgânica complexa é transformada em biogás sendo uma fonte alternativa de energia. O biogás produzido permite a produção de energia térmica e elétrica para as residências (urbanas ou rurais) e para as indústrias, como por exemplo, em aquecedores, caldeiras, fogões, motores, lâmpadas, geladeiras, canalização de biogás para uso doméstico ou aquecimento, além disso, ele pode ser aplicado na queima do lodo de esgoto para secagem e higienização do mesmo (CASSINI, 2003).

Na biodegradação anaeróbica a matéria orgânica pode ser convertida em gases metano cerca de 60 a 70% e de 30 a 40% de dióxido de carbono e outros subprodutos (CAMPOS, 2006).

O funcionamento deste biorreator ocorre com fluxo ascendente, ou seja, o reator UASB é constituído em leito de lodo, no qual ficam retidos os microrganismos ativados que em contato com a água residuária ocorre à digestão anaeróbia, em seguida a fase manta de lodo, na qual ocorre a dispersão do lodo com o efluente tratado e o gás formado. Para o bom funcionamento do digestor anaeróbio o lodo deve sedimentar, as bolhas de gases e o efluente tratado devem seguir em direção ao separador trifásico (filtro) para a coleta de ambos, como ilustrado na Figura 2.5 (CHERNICHARO, 2007).

O fluxo ascendente do efluente alimentado no reator deve ser em baixa vazão para que não haja turbulência no sistema e dificulte a separação da biomassa do substrato (efluente). E a própria vazão de alimentação é utilizada para agitação do meio. A quantidade de lodo dependerá do tipo de microrganismos utilizados e do tipo de efluente.

Figura 2.5 - Esquema do reator UASB



Fonte - Adaptado de Chernicharo, 2007

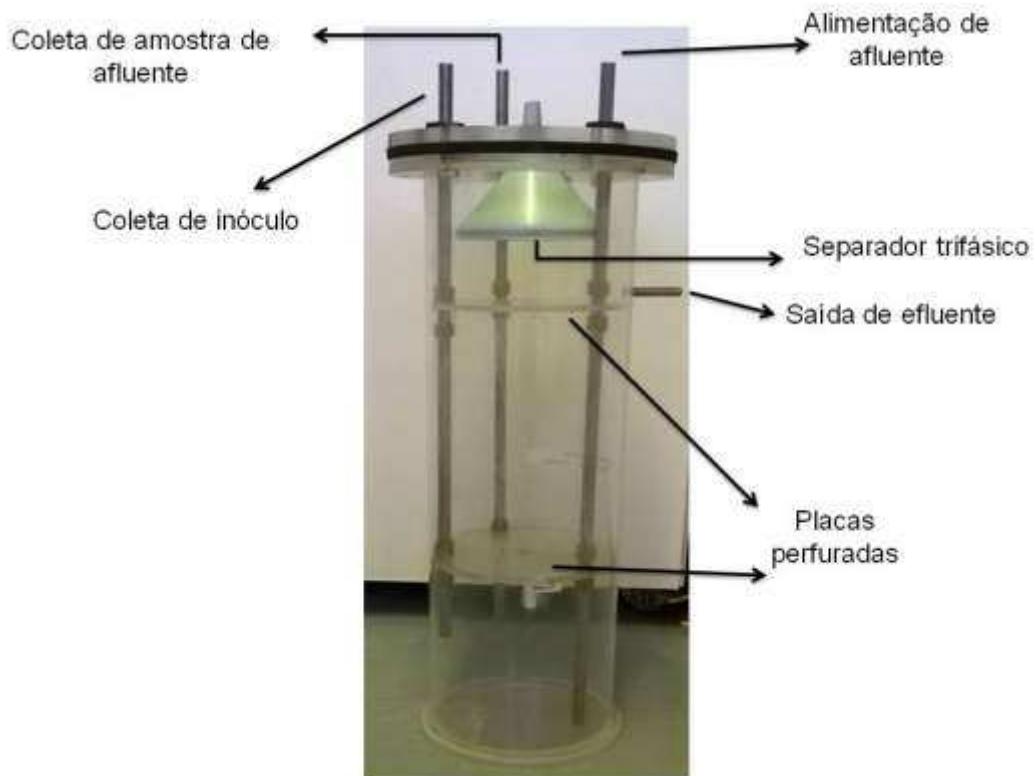
Vale ressaltar que a alimentação do efluente pode ocorrer na região superior do reator UASB, porém mesmo que o efluente seja alimentado pela parte superior, esse efluente

passa por uma canalização até o fundo do reator e assim é liberado para o interior do mesmo para que mantenha a função de fluxo ascendente. O diâmetro do tubo de distribuição do afluente deve ser de 75 a 100 mm e vazão inferior a 0,2 m/s para evitar o arrastes de bolhas de ar para o interior do tanque, além disso, a distribuição deve ser homogênea ao longo de toda área do fundo do reator (JORDÃO; PESSÔA, 2014).

O separador de gases, sólidos e líquidos (separador trifásico) é utilizado na manutenção do lodo dentro do reator para que haja longo tempo de retenção do lodo (idade do lodo). Para isso, o separador deve ser projetado de forma que permita alta eficiência de remoção ou liberação de gases do meio líquido e do lodo, para evitar a flotação dos microrganismos nas bolhas de gases, impedindo a perda da biomassa. Assim o líquido com sólidos se direciona para o decantador (fundo do reator = leito de lodo), onde há baixa velocidade ascensionais e ausência de bolha de gases permitindo a sedimentação do sólido e separação do líquido, podendo retomar a digestão (CHERNICHARO, 2007).

A configuração do UASB pode ser cilíndrica (Figura 2.6) ou retangular. A melhor configuração dependerá da área disponível, da quantidade e do tipo de efluente a ser digerido, da necessidade de manutenção, da remoção de areia e escumas e o custo.

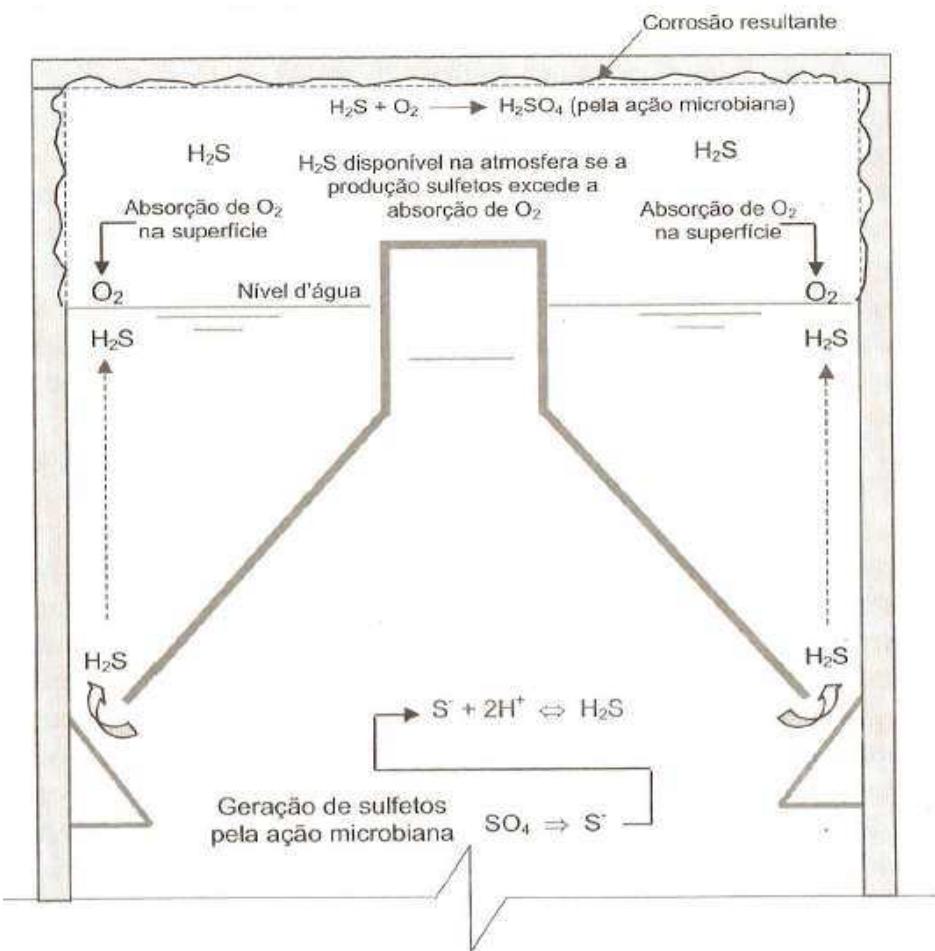
Figura 2.6 - Configuração cilíndrica do reator UASB de bancada



A identificação do tipo de efluente, assim como a determinação de nutrientes adicionados ao meio com intuito de suplementação para garantir melhor desempenho na digestão anaeróbia é muito importante, pois efluente com alta quantidade de sulfatos, o sulfato pode reduzir sua forma para sulfetos (S^-) e o sulfeto em contato com água gera gás sulfídrico (H_2S) no interior do reator, ocorrendo corrosão da parede superior do reator e até mesmo do separador trifásico. E em excesso de gás sulfídrico, o mesmo pode ser liberado para a atmosfera. Umas das opções sugeridas é a substituição de sulfatos por cloreto. A quantidade de sulfetos dependerá do pH e da temperatura do meio. Em baixas temperaturas e pH ácido há maior quantidade de sulfeto dissolvido no meio e consequentemente ocorrerá corrosão e toxicidade no meio e na atmosfera (CHERNICHARO, 2007).

O esquema de corrosão do reator UASB está ilustrado na Figura 2.7, a seguir.

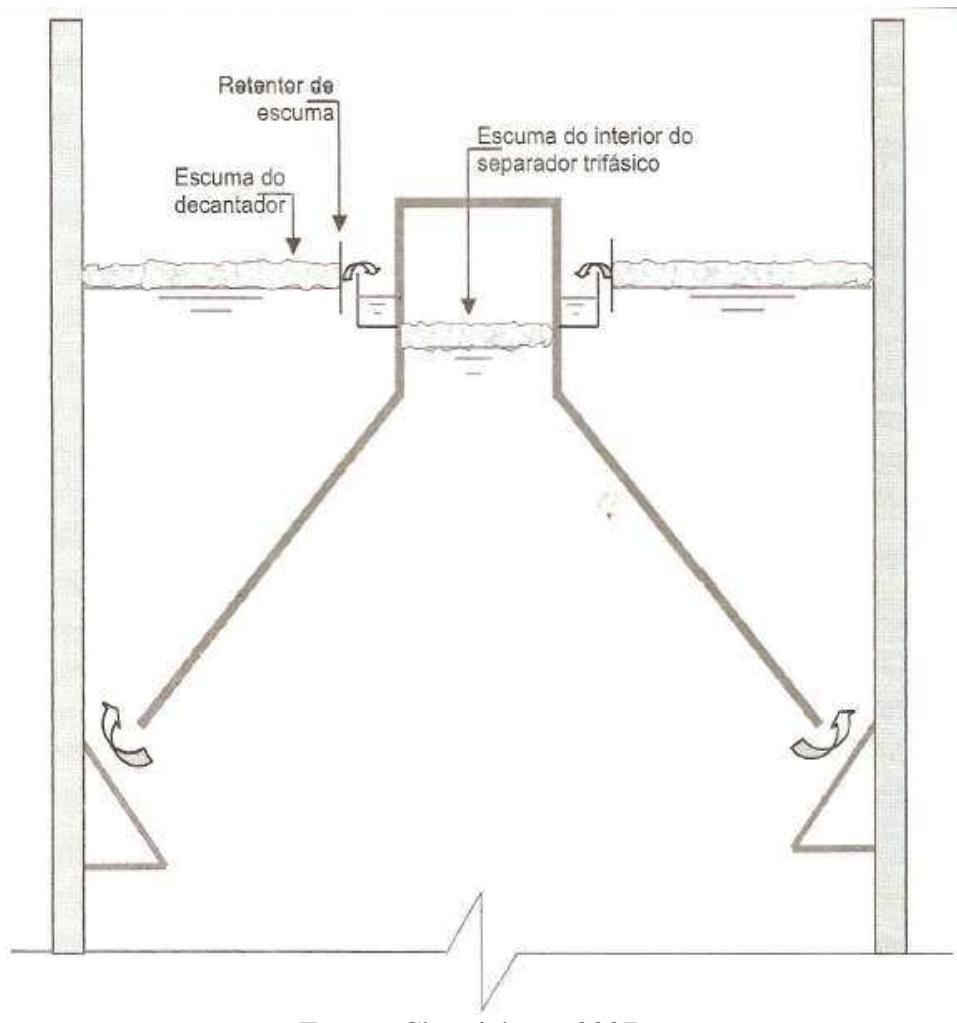
Figura 2.7 - Corrosão do reator UASB



Fonte - Chernicharo, 2007

Efluente com alto índice de gordura (efluente de lacticínios), óleo, sabão, tensoativos de produtos de limpeza (indústria de produtos de limpeza), casca de fruta, papel podem afetar a digestão anaeróbia, pois a formação de escumas (camada de materiais flutuantes) e de espumas provocadas pela grande concentração de surfactantes nos decantadores e no separador trifásico pode afetar a separação das fases e entupir as saídas dos gases, do efluente tratado e impedir que o lodo decante e acumule na superfície do líquido contaminado (Figura 2.8) (CHERNICHARO, 2007).

Figura 2.8 - Formação de escumas no reator UASB



Para impedir ou reduzir a formação de escumas e de espumas pode ser necessário à utilização de pré-tratamento físico-químico, como por exemplo, raspagem da superfície,

processo de oxidação avançado, diluição do efluente e peneiramento (ANDREOLI; VON SPERLING; FERNANDES, 2001).

2.4 PRODUÇÃO, DESCARTE E AMOSTRAGEM DO LODO NO REATOR

O lodo anaeróbio apresenta em média de 3 a 5% de teor de sólidos no interior do reator, o qual tende a crescer ao longo do tempo necessitando de descarte do mesmo periodicamente, pois se o descarte do lodo não for feito pode acumular muitas partículas de lodo e/ou morte celular e ocorrer perda de sólidos no meio líquido tratado e consequentemente o aumento indesejável da concentração de DQO, DBO e sólidos suspensos totais. Pelo teste da Atividade Metanogênica de Lodo (AML) pode verificar as melhores condições para o descarte do lodo e verificar a máxima produção de metano por um consórcio de microrganismos anaeróbios. Para análise do lodo realizam-se coletas por meio de tubos de amostragem do lodo no interior do reator UASB, os quais situem a 0,5; 1,0 e 1,5 m do fundo indicando a concentração do lodo ao longo do reator e os níveis de retirada do lodo em excesso (JORDÃO; PESSÔA, 2014).

Antes da disposição final do lodo, o lodo excedente é desidratado pelo processo de secagem térmica em que o lodo seco pode ser reutilizado como adubo ou ele é incinerado, geralmente os incineradores possuem filtros para reduzir a emissão de gases poluentes (óxido de nitrogênio, monóxido de carbono, ácido clorídrico, dióxido de enxofre e outros) na atmosfera. Ambos os métodos servem para eliminar matéria orgânica e microrganismos patogênicos. Após a incineração o lodo deve ser descartado em aterro sanitário, devido à presença de metais pesados (ANDREOLI; VON SPERLING; FERNANDES, 2001).

2.5 ATIVIDADE METANOGÊNICA DO LODO (AML)

O método de atividade metanogênica do lodo (AML) é a capacidade do grupo microbiano em produzir metano com o intuito de viabilizar a biodegradação de compostos orgânicos a biogás. Este método é realizado por meio de testes de bancada controlados, que verifica a melhor relação alimento/microrganismo, pois durante o teste estabelece a máxima carga orgânica a ser aplicada, a quantidade mínima de microrganismos anaeróbios, a relação de nutrientes necessários, o tempo de incubação e quantidade de metano produzido por métodos manométricos ou volumétricos (AQUINO et al, 2007).

2.6 PARÂMETROS ESSENCIAS DE PROJETO PARA REATOR UASB

Diante das vantagens apresentadas anteriormente, principalmente sua capacidade de desenvolver e manter a biomassa por longo período sem perder sua capacidade de degradação de contaminante presente no efluente e gerar biogás como fonte alternativa de energia num sistema de baixo consumo energético adaptado às condições ambientais do país alguns parâmetros de projeto para reator devem ser analisados e calculados para melhor desempenho do processo anaeróbio.

Os principais parâmetros para projeto de reatores UASB são tempo de retenção hidráulica (TRH em dias), sendo a relação entre o volume do reator e vazão de alimentação do substrato no mesmo e carga orgânica volumétrica (COV), dada pela quantidade de massa orgânica por unidade de volume (kg DQO/m³.d). Para esgoto doméstico a COV varia entre 2,5 a 3,5 kg DQO/m³.d e para efluentes industriais a COV pode atingir valores 10 vezes maiores (25 a 35 kg DQO/m³.d). Assim o volume do reator pode ser determinado pela multiplicação da vazão de alimentação e o tempo (RODRIGUES, 2008 apud RODRIGUES, 2014, p. 366).

Para Jordão e Pessôa (2014), os fatores fundamentais para o funcionamento do reator UASB são as condições operacionais relacionadas aos fatores ambientais e de alimento, bem como a geometria e as características do reator aliados ao tempo de retenção de sólidos biológicos (idade do lodo) para reduzir a quantidade de lodo a descartar e ao tempo de retenção hidráulico para tornar mais econômico a construção do reator.

Outros parâmetros apresentados na literatura são: carga hidráulica volumétrica (CHV) que é o volume de substrato adicionada diariamente no biorreator por unidade de volume do mesmo (m³/m³.d), sendo o inverso de TRH; a carga de lodo definida pela quantidade de massa orgânica diária por unidade de biomassa (kg DQO/kg STV.d); e velocidade superficial do fluxo (m/h), dada pela relação entre a vazão de alimentação e área da seção transversal do reator (CHERNICHARO, 2007). A velocidade do fluxo deve ser baixa para que não haja turbulência no interior do reator, não arraste a biomassa com efluente e não diminua o tempo de residência do inóculo e nem a eficiência sendo a vazão máxima inferior a 1,2 m/h (PESSÔA; JORDÃO, 2014).

A eficiência ou remoção da demanda química de oxigênio (DQO) pode ser calculada pelo quociente da diferença entre DQO inicial e final e a DQO inicial multiplicado por 100. A qual avalia em % quanto de matéria orgânica foi removida e se de acordo com as condições de operação adotadas o processo está sendo eficiente (MARTINS, 2000).

Conforme Pessôa e Jordão (2014), um bom projeto de reator UASB pode obter um efluente com a eficiência média de 65% de remoção de DQO.

De acordo com ABNT (2011) a velocidade ascensional deve ser igual ou inferior a 2,5 m/h para a vazão média e inferior a 1,2 m/h para a vazão máxima e o tempo de retenção hidráulico deve ser superior ou igual a 1,5 h para a vazão média e superior a 1 h para vazão máxima. Além disso, o reator deve apresentar profundidade útil de 4 a 6 m e a do compartimento inferior de digestão no mínimo 2,5 m.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MICRORGANISMOS

A cultura mista denominada C1 utilizada foi coletada de uma lagoa de uma distribuidora de combustíveis, na qual eram depositados efluentes contaminados por óleo diesel e gasolina devido ao derramamento e/ou lavagem do pátio. Esta coleta e identificação da cultura foram realizadas nos trabalhos de Vieira et al., 2007 e 2010. Essa cultura foi mantida em estoque no Núcleo de Biotecnologia da Faculdade de Engenharia Química - UFU.

O lodo anaeróbio denominado C2 foi gentilmente cedido pela Empresa Souza Cruz - Fábrica em Uberlândia - MG da unidade de tratamento anaeróbio de efluentes.

3.2 BIODIESEL

O biodiesel foi gentilmente fornecido pela Caramuru Alimentos S/A - São Simão - GO.

3.3 MEIO DE CULTIVO

Os meios de cultivo utilizados nos testes foram denominados como M1, M2, M3 e M4 de acordo com Vieira et al., (2007 e 2010); Chernicharo, (2007) e Brandão, (2013).

Vale salientar, que os meios M1 e M2 foram empregados para os experimentos empregando a cultura mista C1 e os meios M3 e M4 para o lodo anaeróbio.

O meio M1 era composto pelos reagentes quimicamente definidos (g/L): K₂HPO₄ 0,401; KH₂PO₄ 1,124; NH₄NO₃ 3,386; MgSO₄.7H₂O 0,100; CaCl₂.2H₂O 0,020; MnSO₄.H₂O 0,030 e extrato de levedura 4,0. A correção de pH foi realizada com solução de NaOH 1M ou HCl 1N. Esse meio foi utilizado nos testes com a cultura mista C1 (facultativa) cultivada nas condições com aerações intermitentes e anaeróbias

O meio de cultivo (M2) apresentava a mesma composição do meio M1 acrescido da fonte de ferro e empregando bicarbonato de sódio como meio de correção do pH e tamponamento do meio, nas seguintes concentrações em g/L: Fe₂SO₄.7H₂O 0,5 g/L, e NaHCO₃ PA 0,6325g/L (para proporcionar a correção do pH para 6,6).

O meio de cultivo (M3) - o meio empregado na adaptação do lodo anaeróbio, denominado de C2 e quimicamente definidos (g/L), com base no proposto por Chernicharo

(2007) e Brandão (2013): NH₄Cl 0,164; K₂HPO₄ 0,00535; KH₂PO₄ 0,00322; MgSO₄.7H₂O 0,2; CaCl₂.2H₂O 0,1; extrato de levedura 0,5; FeCl₃.6H₂O 0,002; MnCl₂.4H₂O 0,0005; e NaHCO₃ PA 0,0042g/L (agente de correção de pH e tamponante).

O meio de cultivo (M4) - quimicamente definido com as mesmas concentrações descritas no meio M3 suplementado com micronutrientes - cloreto de cobalto, sulfato de ferro 2 e cloreto de níquel, nas seguintes concentrações (g/L), com base no proposto por Chernicharo, (2007); Brandão (2013) e Andreoli; Von Sperling; Fernandes (2001): NH₄Cl 0,164; K₂HPO₄ 0,00535; KH₂PO₄ 0,00322; MgSO₄.7H₂O 0,2; CaCl₂.2H₂O 0,1; extrato de levedura 0,5; FeCl₃.6H₂O 0,002; MnCl₂.4H₂O 0,0005; CoCl₂.6H₂O 0,002; Fe₂SO₄.7H₂O 0,0025; NiCl₂.6H₂O 0,00005 e NaHCO₃ PA com diferentes concentrações 0,0042; 1,4; e 1 g/L, que corresponderam a relação de 0,0012 g HCO₃⁻/g DQO, 0,03 g HCO₃⁻/g DQO e 0,4 g HCO₃⁻/g DQO. Estas relações de neutralizações com bicarbonato de sódio foram testadas a fim de verificar o efeito do bicarbonato no processo de biodegradação e produção de metano. Essa relação gramas de bicarbonato por gramas de DQO (g HCO₃⁻/g DQO) já foi avaliada por alguns autores (Doll e Foresti, 2010), em seus estudos a fim de verificar o desempenho da biomassa em reator anaeróbio sob diferentes temperaturas. Os resultados obtidos por estes autores mostraram, que para condições mesofílicas as melhores relações gramas de bicarbonato por gramas de DQO (g HCO₃⁻/g DQO) foram de 0,2 a 0,4.

Nos meios M3 e M4, os reagentes denominados sulfatos foram substituídos por cloretos para evitar ou reduzir a possível formação de sulfetos no meio. Tais sulfetos (forma reduzida dos sulfatos) surgem devido à redução do sulfato presente no afluente que produz gás sulfídrico e consequentemente a ocorrência de corrosão do reator UASB (CHERNICHARO, 2007).

3.4 EXPERIMENTO COM CULTURA C1

3.4.1 Adaptação da cultura C1 a mistura de óleo diesel e gasolina empregando aeração intermitente

A cultura C1 foi mantida em reatores cônicos de capacidade de 250 mL com 100 mL de meio inorgânico M1 (Item 3.3) previamente preparado e esterilizado em autoclave a 1 atm (manométrica) por 15 min. Após esterilização e resfriamento do meio à temperatura ambiente os reatores cônicos eram inoculados com biomassa advinda da centrifugação de 40 mL de meio fermentado, o qual estava estocado sob refrigeração a 4 °C ± 2 e acrescidos de 50 mL/L

da mistura de óleo diesel e gasolina, fontes iniciais de contaminação em que as culturas estavam previamente adaptadas. Os experimentos de preparo do inóculo foram desenvolvidos sob agitação em mesa oscilatória termostatizada New Brunswick a 120 rpm e 30 °C ± 5 por 3 dias, com aerações intermitentes a cada 33 horas por um período de 5 minutos. Estas condições foram previamente definidas no trabalho de Vieira et al. (2007).

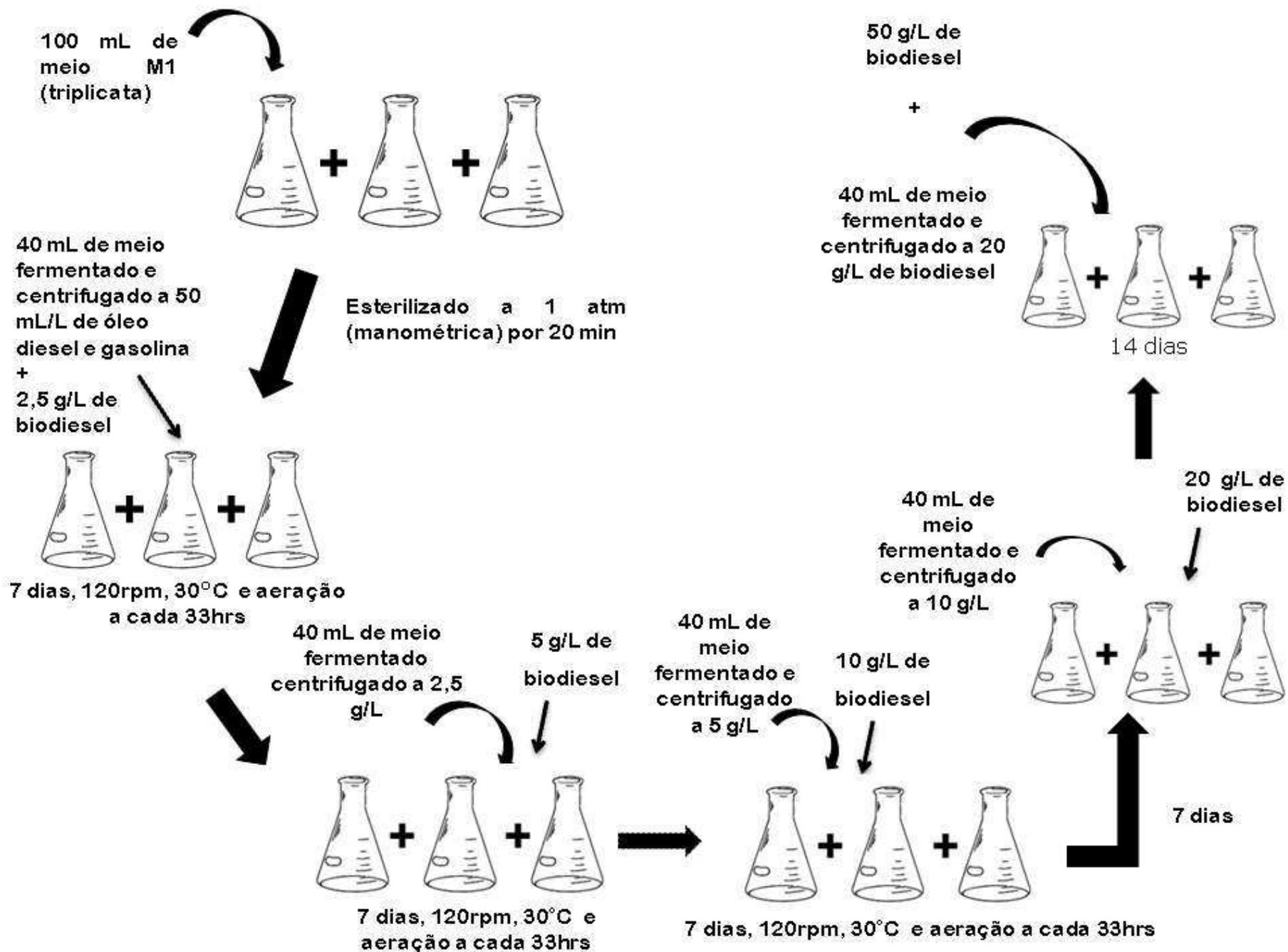
3.4.2 Adaptação da cultura C1 ao biodiesel empregando aeração intermitente

Nesta etapa foi realizada a adaptação da cultura mista a concentrações crescentes de biodiesel de 2,5; 5; 10; 20 e 50 g/L (0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 5 g de biodiesel, respectivamente) adicionados a 100 mL de meio inorgânico M1 (Item 3.3) em reatores cônicos de bancada (capacidade de 250 mL), previamente esterilizado e resfriado a temperatura ambiente. O inóculo empregado em cada biorreator cônicos tampado com rolha de algodão e gase foram oriundos de 40 mL de cultura mista adaptada a mistura de óleo diesel e gasolina (item 3.4.1) previamente centrifugada por 15 minutos a 8.000 rpm. Os experimentos foram conduzidos sob agitação em mesa oscilatória termostatizada New Brunswick a 120 rpm a 30 °C ± 5, por 7 dias para os aumentos crescentes de concentrações de 2,5; 5; 10; 20 g/L e 14 dias para 50 g/L. O tempo de 14 dias de adaptação da cultura ao meio contendo 50 g/L foi necessário devido à máxima concentração que a cultura mista conseguiu atuar na biodegradação do biodiesel, conforme estudos previamente realizados por Raminho (2015) e Lemos (2013). A aeração foi realizada manualmente por 3 minutos a cada 33 horas segundo Vieira et al. (2007). Vale salientar, que os inóculos utilizados da cultura C1 nos reatores cônicos a cada aumento consecutivo de concentração de biodiesel foram da biomassa centrifugada de condições anteriores, assegurando assim a adaptação da mesma.

Nesta etapa foram empregados reatores nas diferentes condições em triplicata e foram acompanhados os resultados de DQO, de pH e de massa seca para quantificação do crescimento celular apenas na concentração de 50 g/L de biodiesel durante os 14 dias de processo.

A Figura 3.1 ilustra os procedimentos da adaptação da cultura C1 ao biodiesel nas concentrações de 2,5 a 50 g/L.

Figura 3.1 - Esquema do procedimento de adaptação da cultura C1ao biodiesel nas concentrações de 2,5 a 50 g/L empregando aeração intermitente



3.4.3 Experimento da cultura C1 após adaptação

3.4.3.1 Avaliação do comportamento da biodegradação com o tempo empregando aeração intermitente

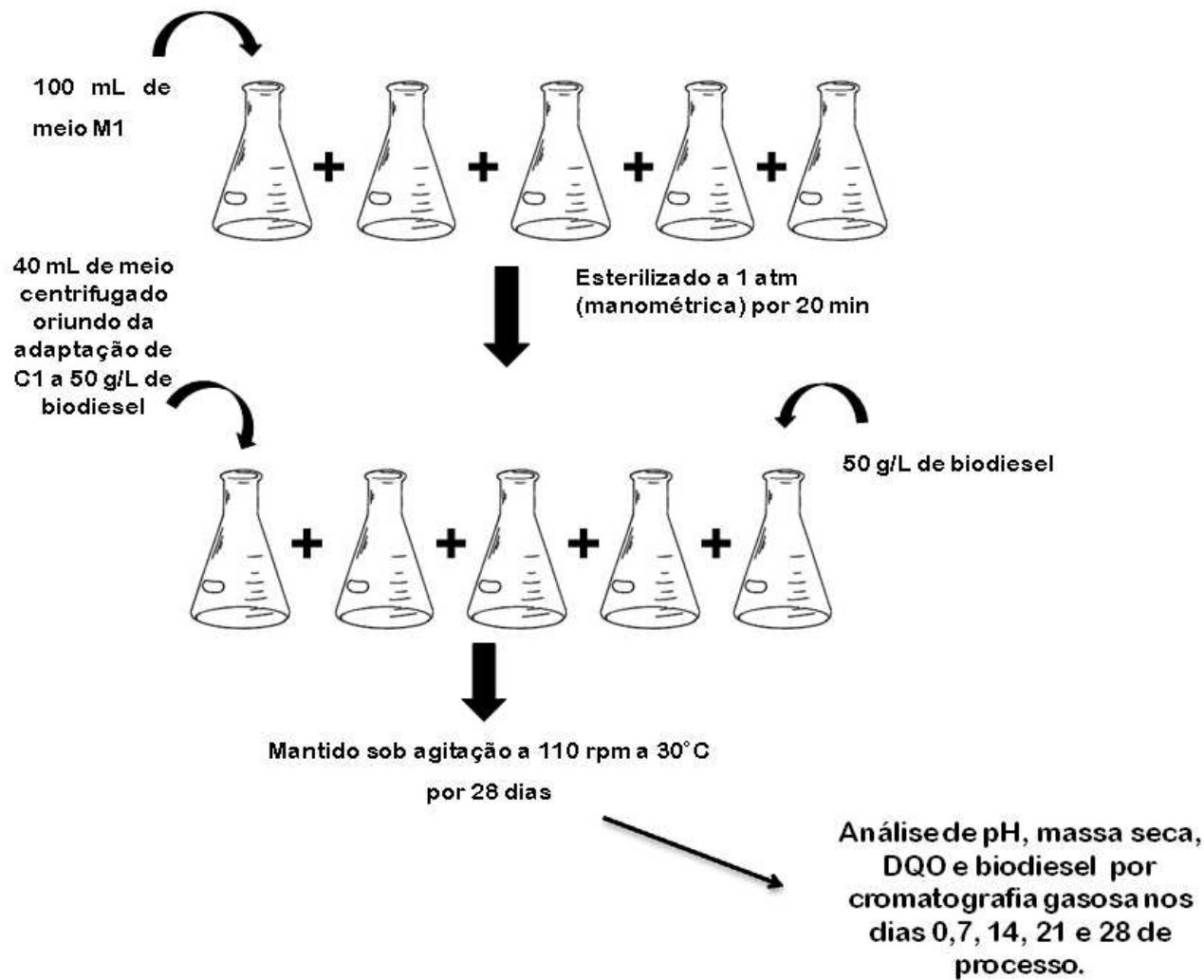
Esta etapa visou o acompanhamento do processo de biodegradação na máxima concentração de biodiesel (50 g/L) obtida na etapa de adaptação e estendendo o tempo de processo (28 dias) a fim de verificar melhoria ou não na biodegradação do contaminante.

As condições operacionais bem como o meio de cultivo utilizados foram os mesmos empregados nos experimentos do Item 3.4.2, no qual foi adicionado 100 mL de meio M1 em reatores cônicos de bancada com capacidade de 250 mL tampado com rolha de algodão e gase, em seguida, o meio foi esterilizado a 121 °C e a 1 atm (manométrica) por 20 minutos. Após esterilização e resfriamento do meio foi adicionado o inóculo C1 oriundo da centrifugação (por 15 minutos a 8000 rpm) de 40 mL de meio fermentado e adaptado a 50 g/L de biodiesel (Item 3.4.2) e contaminou cada reator cônicos inoculado com 50 g/L de biodiesel.

Os experimentos foram mantidos sob agitação em mesa oscilatória termostatizada New Brunswick a 110 rpm e 30 °C ± 5 por 28 dias. A aeração foi realizada manualmente por 3 minutos a cada 33 horas segundo Vieira et al. (2007).

Para análise das amostras foram realizadas as coletas de amostra em 0, 7, 14, 21 e 28 dias. Para cada dia de coleta foram realizadas as análises de pH, massa seca, DQO e biodiesel. O esquema do procedimento é ilustrado na Figura 3.2.

Figura 3.2 - Esquema do procedimento utilizado para avaliar a biodegradação empregando aeracão intermitente



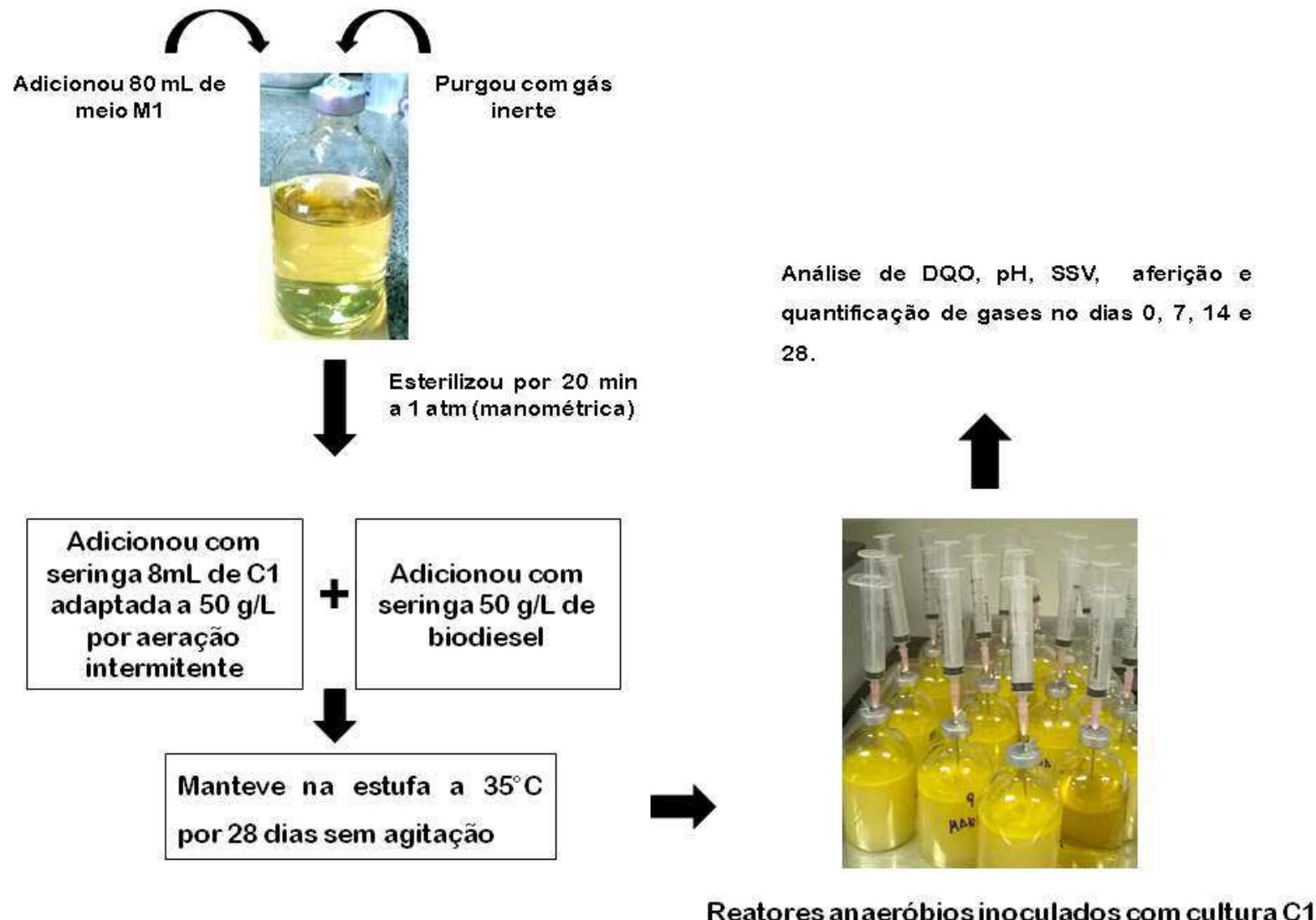
3.4.3.2 Preparo de inóculo sob condições anaeróbias

Visando verificar a capacidade da cultura C1 em biodegradar biodiesel sob condição anaeróbia, uma vez que esta cultura apresenta metabolismo facultativo descrito por Vieira et al. (2007), foi inicialmente realizada a adaptação da cultura C1 à condição de anaerobiose. Esta cultura também foi previamente estudada por Raminho (2015) em seu estudo da utilização de tratamentos físico e biológico conjugados na remediação de solo contaminado por biodiesel em reatores de diferentes escalas.

Para esta etapa foi preparado meio inorgânico (M1) com correção do pH com solução de HCl 1N. Visando manter a anaerobiose do sistema os experimentos foram conduzidos em frascos de penicilina de capacidade de 100 mL. Para o desenvolvimento dos experimentos em condição anaeróbia foram empregados 80 mL de meio distribuídos nos frascos de penicilina de capacidade de 100 mL. Após esta adição o meio foi purgado com gás inerte (argônio) por tempo pré-determinado para a purga do oxigênio dissolvido presente no meio e posteriormente vedado com rolha de borracha e lacrado com lacre em alumínio. Em seguida, o sistema foi levado para a esterilização em autoclave a 121 °C e 1 atm (manométrica) por 20 min. A fim de quantificar a quantidade de gases formados no metabolismo foi ajustado à rolha de vedação dos frascos seringas para quantificação do volume gerado e a coleta dos gases, visando posteriores análises. Foi adicionado sob condições assépticas 8 mL de C1 adaptada em condições com aeração intermitente, adicionada por meio de seringa inserida no topo do frasco através da tampa de borracha e 50 g/L de biodiesel (4g de biodiesel/80 mL de meio), sendo este adicionado com auxílio de seringa para manutenção do sistema vedado e garantia da anaerobiose. Os experimentos foram conduzidos em estufa a 35°C por 28 dias. As análises foram realizadas no 0°, 7°, 14° e 28° dias. As amostras dos biorreatores foram centrifugadas e separadas em sobrenadante e lodo, para posteriores análises. Foi analisado pH, DQO, quantificação de biodiesel, aferição de gases produzidos (por movimentação do êmbolo) e sólidos solúveis voláteis (SSV). Para as análises de DQO e quantificação de biodiesel após a centrifugação da amostra foi necessária à filtragem do sobrenadante com membrana filtrante 0,45µm.

A seguir, a Figura 3.3 apresenta o esquema do procedimento de preparo do inóculo em condição anaeróbia.

Figura 3.3 - Esquema do procedimento de preparo do inóculo em condição anaeróbia



3.4.3.3 Experimentos em condições anaeróbias: avaliação do tipo de processo aplicado na preparação do inóculo

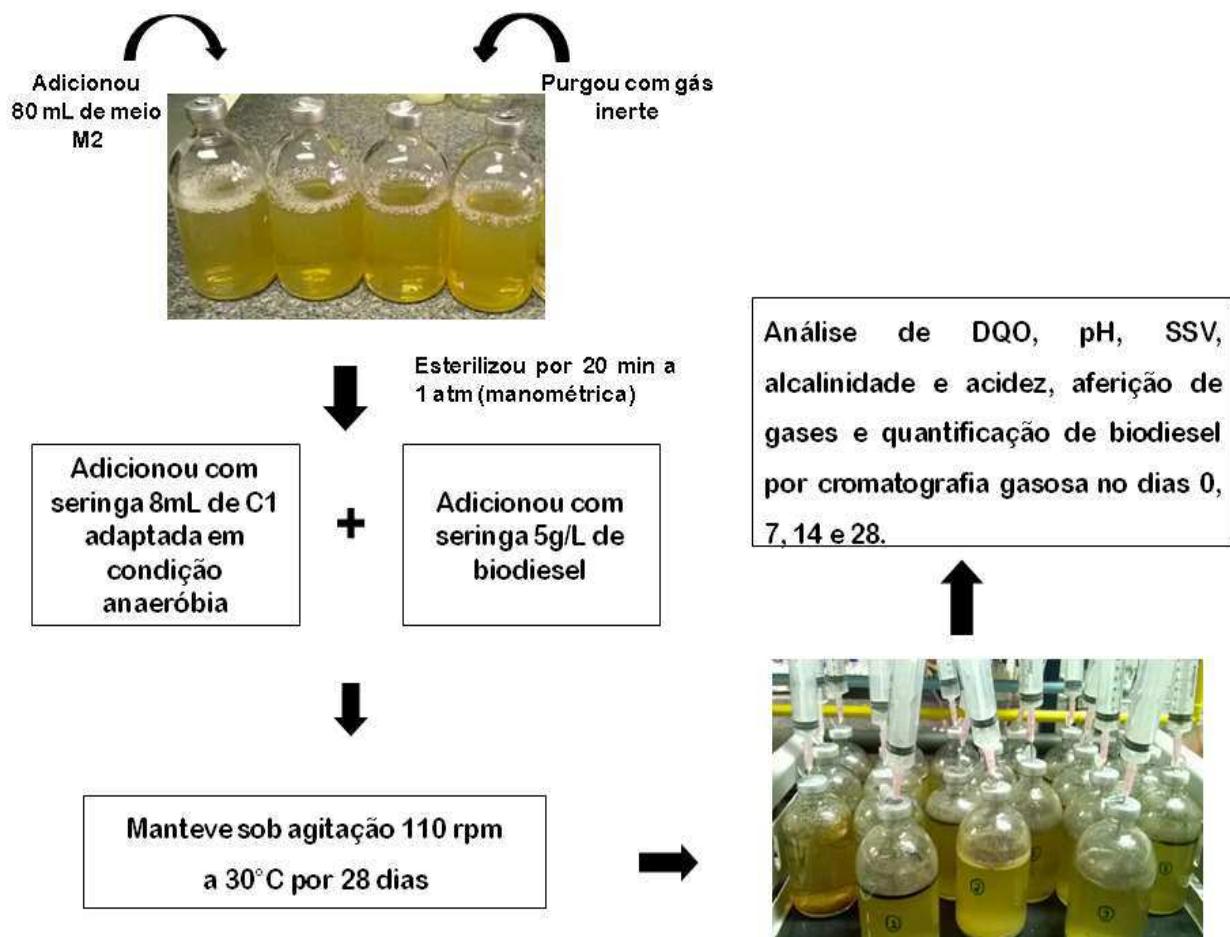
Os procedimentos de preparo das condições de anaerobiose empregados nesta etapa seguiram os mesmos passos apresentados no item 3.4.3.2. A única diferença nesta etapa foi a utilização do meio de cultivo e a forma de correção do pH. A finalidade deste estudo foi verificar a potencialidade da cultura mista, oriunda da adaptação em condições anaeróbia e por aeração intermitente, sob condição anaeróbia de biodegradar o contaminante. Para este fim, foi necessário empregar um novo meio de cultivo (M2) e alterar a forma de correção de pH (bicarbonato de sódio) para ajuste da melhor condição que favorecesse a anaerobiose. A correção do pH com bicarbonato é citado na literatura como substância potencialmente alcalinizante para manutenção do pH próximo à neutralidade preservando a biomassa de eventuais instabilidades decorrentes da possibilidade de acúmulo de grande quantidade de ácidos gerados no processo metabólico (GRIFFIN et al., 1998; TORRES LOZADA et al., 2005). O meio de cultivo M2 (Item 3.3) apresenta na sua constituição além dos elementos primordiais (macronutrientes) nitrogênio, fósforo e enxofre e o micronutriente (manganês), idem meio M1, teve como elemento adicionado o ferro como nutriente. Segundo Chernicharo (2007), o ferro é um dos principais micronutrientes requeridos pelas bactérias que formam o metano a partir do acetato formado no processo. Outro ponto alterado nesta etapa do processo foi a correção do pH com bicarbonato de sódio (NaHCO_3) para atingir pH de 6,6. Vários produtos químicos podem ser utilizados para controlar o pH dos processos anaeróbios, dentre estes o bicarbonato de sódio, que é classificado dentro do grupo de componentes químicos que fornecem alcalinidade bicarbonato diretamente, importante para a manutenção da alcalinidade necessária ao processo anaeróbio (CHERNICHARO, 2007).

Foram realizados 2 testes (T1 e T2) nesta etapa. Para o desenvolvimento dos experimentos em condição anaeróbia foram empregados 80 mL de meio distribuídos nos frascos de penicilina de capacidade de 100 mL. Após esta adição o meio foi purgado com gás inerte (argônio) por tempo pré-determinado para a purga do oxigênio dissolvido presente no meio e posteriormente vedado com rolha de borracha e lacrado com lacre em alumínio. Em seguida o sistema foi levado para a esterilização em autoclave a 121 °C e 1 atm por 20 min. Foi adicionado sob condições assépticas a cada frasco em estudo 8 mL de C1 adaptada em condições com aeração intermitente e anaeróbia, adicionada por meio de seringa inserida no topo do frasco através da tampa de borracha e 50 g/L de biodiesel (4 g de biodiesel/80 mL de meio), sendo este adicionado com auxílio de seringa para manutenção do sistema vedado e

garantia da anaerobiose. Nesta etapa trabalhou-se com a concentração de 50 g/L para simular condições de contaminação com baixa carga, que podem ser decorrentes de efluente gerado em lavagens de locais contendo resíduos de biodiesel.

- Teste 1 (T1) com inóculo produzido sob condição anaeróbia: as análises foram realizadas em 0, 7, 14 e 28 dias de processo. As amostras dos biorreatores foram centrifugadas e separadas em sobrenadante e lodo, para posteriores análises. Foram analisados pH, DQO, quantificação de biodiesel, SSV, acidez e alcalinidade e produção de gases (Figura 3.4).

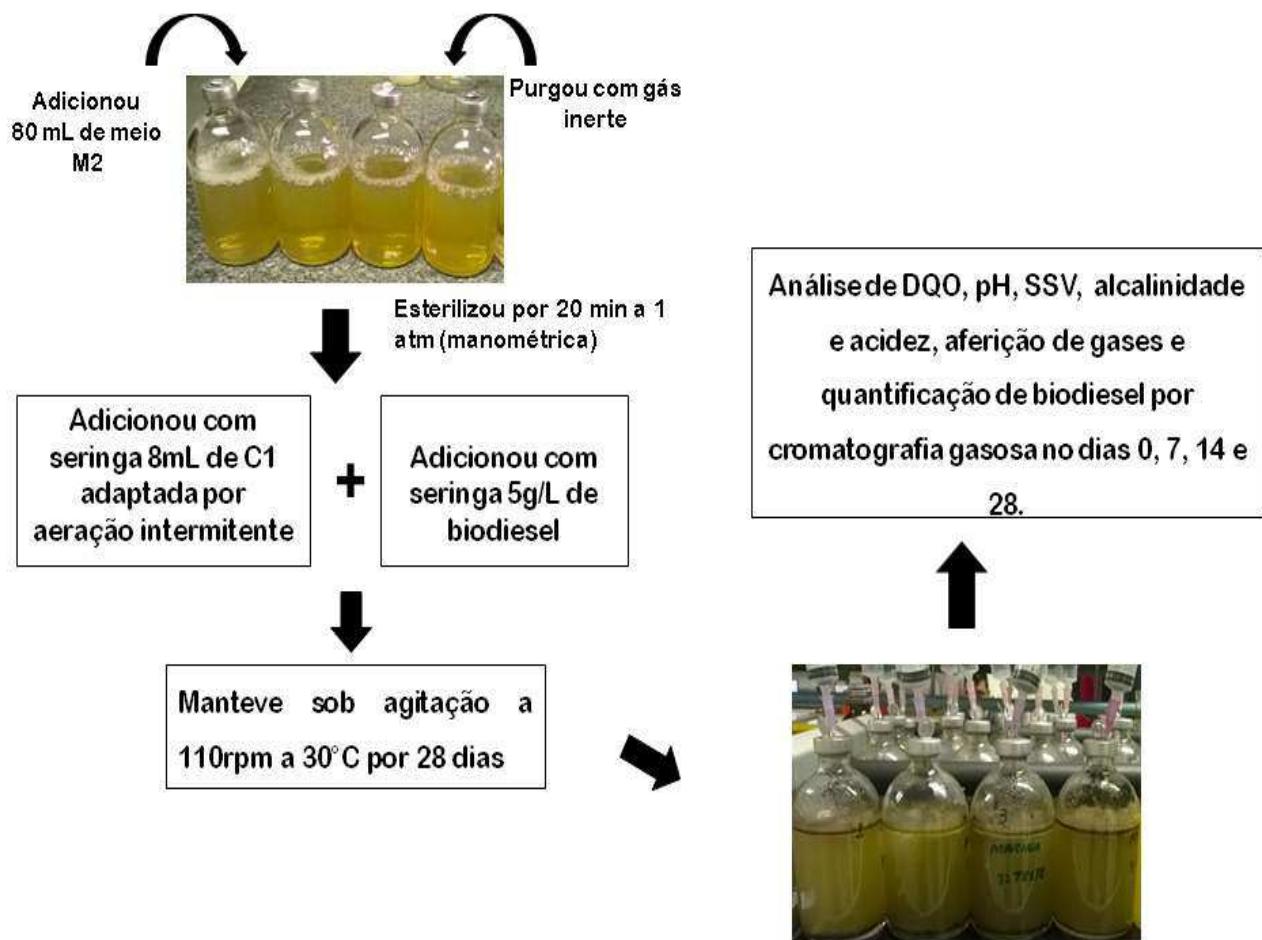
Figura 3.4 - Esquema do processo anaeróbio com inóculo preparado sob condição anaeróbia



- Teste 2 (T2) foi preparado o Meio M2 nas condições de operação idênticas ao descrito para o Teste T1. A única condição que diferencia este teste é em relação à fonte de inóculo empregada, neste caso foi utilizado o inóculo preparado em condição com aeração

intermitente. As amostras dos biorreatores foram centrifugadas e separadas em sobrenadante e lodo, para posteriores análises. As análises realizadas nesse teste foram pH, DQO, quantificação de biodiesel, SSV, acidez e alcalinidade e produção de gases, como ilustra a Figura 3.5.

Figura 3.5 - Esquema do processo anaeróbio com cultura C1 adaptada em condição com aeração intermitente



3.5 EXPERIMENTOS COM LODO (C2)

3.5.1 Caracterização do lodo

Para caracterização do lodo foram realizados os ensaios de sedimentabilidade, índice volumétrico de lodo (IVL), sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV).

3.5.2 Adaptação do lodo ao biodiesel

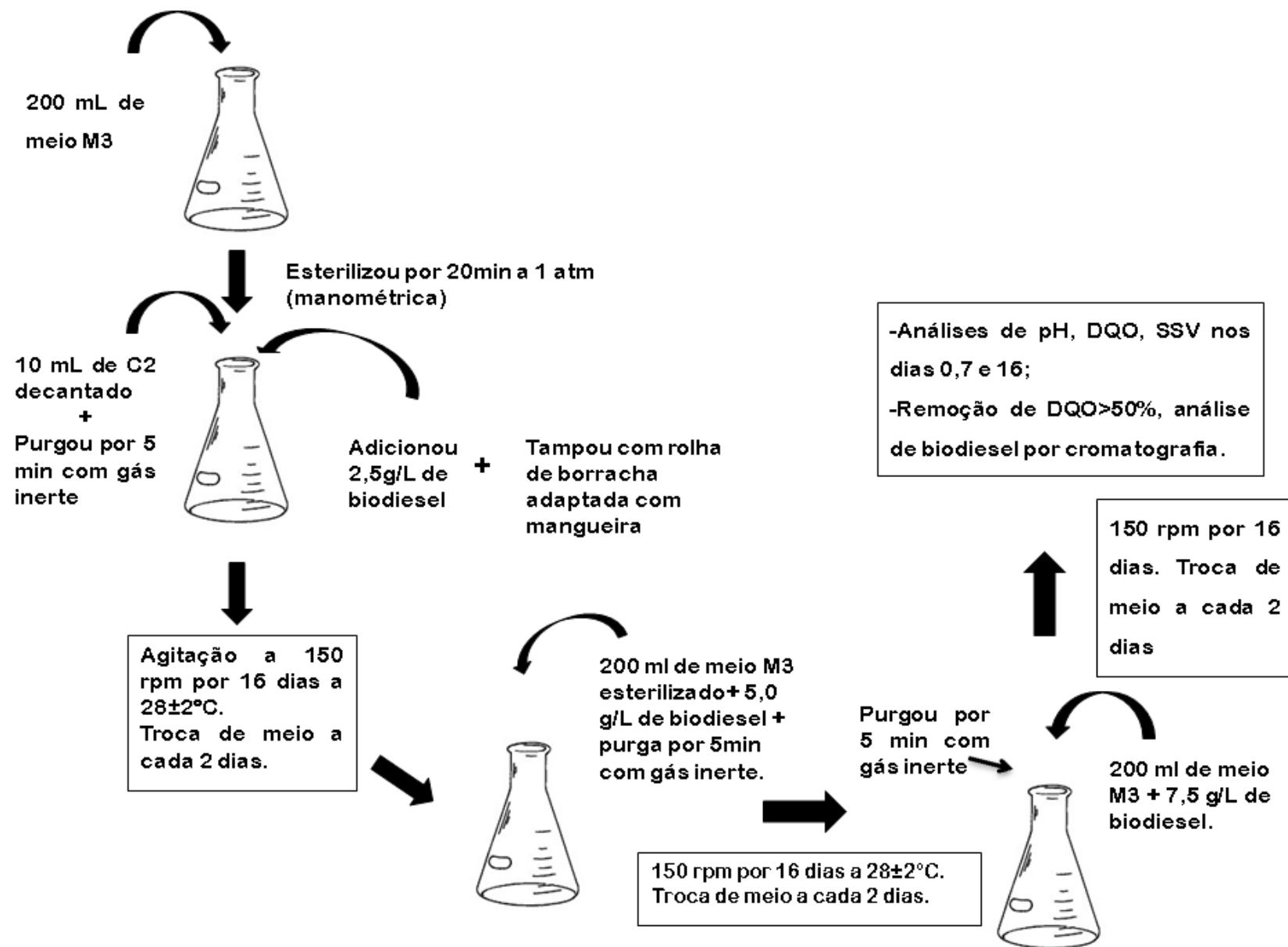
Preparou-se o meio M3 e distribuiu-se 200 mL em reatores cônicos de bancada com capacidade de 500 mL. A esterilização do meio foi realizada em autoclave por 20 minutos a 1 atm (manométrica). No processo de esterilização os reatores foram tampados com rolha de algodão e gase. Após resfriamento do meio, em cada reator foi adicionado 10 mL de C2 decantado, realizou-se a purga do meio com gás inerte por cerca de 5 minutos, posteriormente foi adicionado à concentração crescente de biodiesel (2,5; 5,0 e 7,5 g/L = 0,5; 1,0 e 1,5 g de biodiesel, respectivamente) no meio para adaptação do lodo. Os reatores foram imediatamente tampados com rolha de borracha adaptada com mangueira visando vedar o sistema e verificar a formação de gases (Figura 3.6). O processo foi conduzido em mesa giratória a 150 rpm por 16 dias a temperatura 28 °C±2.

Figura 3.6 - Adaptação da cultura ao biodiesel



O procedimento de adaptação do lodo consistiu na troca de meio, com reposição de um novo meio M3 a cada dois dias, sendo mantido o inóculo no próprio reator. Vale salientar, que a cada troca de meio o procedimento de preparo, bem como o sistema de operação dos reatores seguiram os mesmos protocolos descritos anteriormente. Durante esta adaptação foram acompanhadas as análises de pH, DQO e SSV, em 0, 7 e 16 dias. Para as amostras que obtiveram remoção maior que 50% realizou-se a análise de quantificação de biodiesel por cromatografia gasosa (CG). O esquema do processo de adaptação está ilustrado na Figura 3.7.

Figura 3.7 - Esquema do procedimento de adaptação do lodo C2



3.5.3 Experimento de biodegradação do biodiesel a 5 g/L empregando C2 adaptado

Nesta etapa do processo foram realizados 2 experimentos:

- 1) após adaptação do lodo C2 este foi conduzido em experimento durante 16 dias com suplementação de 0,0042 g/L de NaHCO_3 e sem troca de meio (M3)+biodiesel para verificar se o efeito de acúmulo de metabólitos no meio comprometeria o processo de biodegradação, uma vez que esta cultura foi adaptada sob a condição de troca de meio a cada 2 dias de processo;
- 2) avaliar a suplementação de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) em 1g/L no meio M3+biodiesel. O efeito do bicarbonato de sódio é relatado na literatura como um fator importante como alcalinizante para a preservação da biomassa, mantendo o pH próximo da neutralidade evitando casos eventuais de instabilidade (acidificação do meio) devido a grande produção de ácidos orgânicos decorrentes do processo metabólico anaeróbio (DOLL; FOREST, 2010; TORRES LOZADA et al, 2005, GRIFFIN et al., 1998). A adição deste componente torna-se interessante por este composto ser um produto final da metanogênese (TORRES LOZADA et al., 2005, GRIFFIN et al., 1998). Com a adição do agente tamponante pode verificar se as condições do sistema estão adequadas a partir da determinação da relação AI/AP. Esta relação indica se a quantidade de bicarbonato adicionado está suficiente para o controle do pH no sistema em caso de excesso de ácidos voláteis ou se a relação alimento/microrganismo está de acordo para não leva ao excesso de ácidos voláteis no meio e acidificar o mesmo prejudicando as bactérias metanogênicas, como descrito no item 2.2.4 (CHERNICHARO, 1997 e 2007).

Para o desenvolvimento dos experimentos preparou-se o meio M3 e distribuiu-se 200 mL em reatores cônicos de bancada com capacidade de 500 mL. A esterilização do meio foi realizada em autoclave por 20 minutos a 1 atm (manométrica). No processo de esterilização os reatores foram tampados com rolha de algodão e gase. Após resfriamento do meio, em cada reator foi adicionado C2 decantado e adaptado na etapa anterior (Item 3.5.2). Realizou-se a purga do meio com gás inerte (nitrogênio) por 5 minutos, posteriormente foi adicionado a concentração 5 g/L de biodiesel (1g de biodiesel/200 mL de meio) no meio. Os reatores foram imediatamente tampados com rolha de borracha adaptada com mangueira visando vedar o sistema e verificar a formação de gases (mesmo sistema adotado na etapa de adaptação). O processo foi conduzido em mesa oscilatória a 150 rpm por 16 dias a temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 2$). As análises realizadas foram DQO, pH, alcalinidade e acidez, quantificação de

biodiesel por cromatografia em 0, 6, 8, 12 e 16 dias. O SSV foi determinado no início e final do experimento.

As Figuras 3.8 e 3.9 ilustram os procedimentos realizados nesta etapa de avaliação da biodegradação em função das diferentes concentrações do neutralizante bicarbonato de sódio (NaHCO_3).

Figura 3.8 - Esquema dos procedimentos do experimento 1 com meio de cultivo M3, adição de 0,0042 g/L de NaHCO_3 e sem troca de meio durante 16 dias de processo

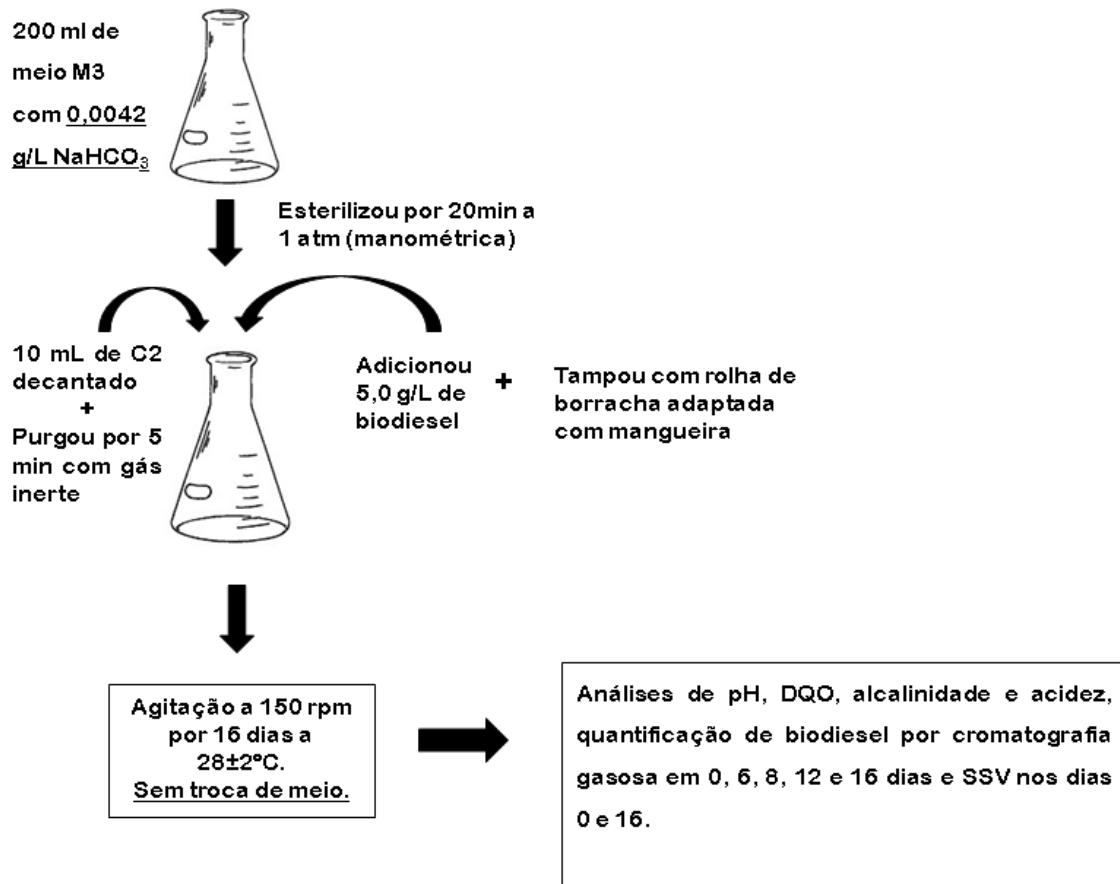
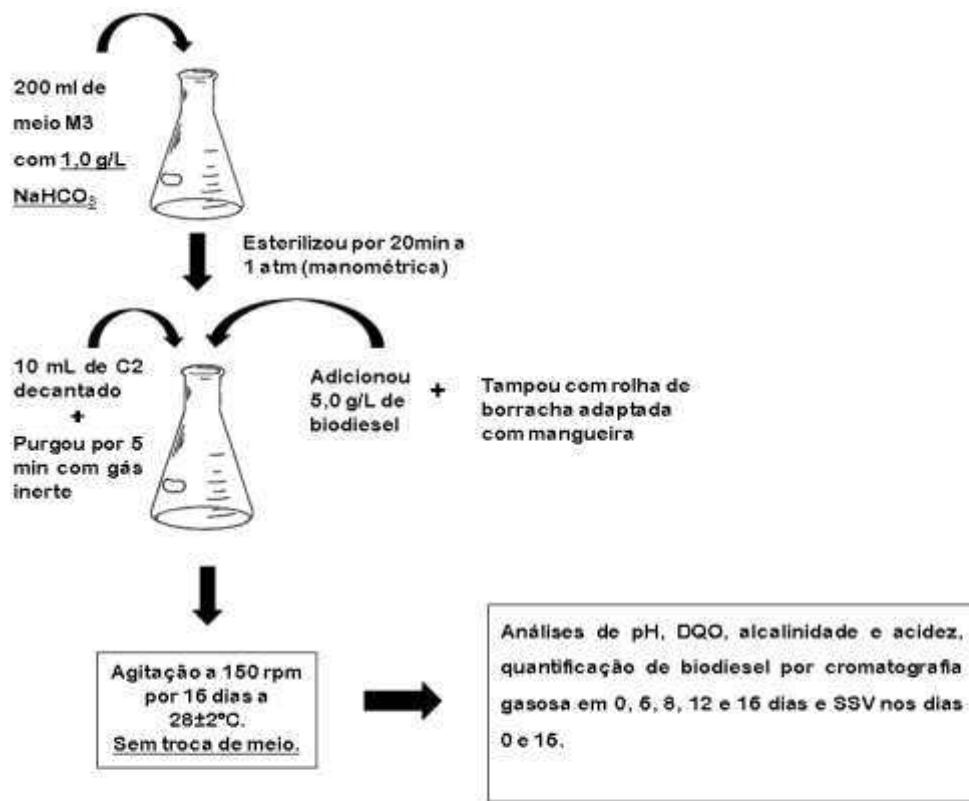


Figura 3.9 - Esquema dos procedimentos do experimento 2 com meio de cultivo M3, adição de 1 g/L de NaHCO_3 e sem troca de meio durante 16 dias de processo



3.5.4 Avaliação da suplementação do meio de cultivo, relação alimento/microrganismo (A/M) e concentração de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) no processo de biodegradação empregando lodo (C2)

Com o lodo previamente adaptado foram realizados os testes em que foram avaliados as seguintes condições: suplementação do meio de cultivo, relação alimento/microrganismo (A/M) e concentração de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) no processo de biodegradação de biodiesel na concentração de 5 g/L de biodiesel. Nesta etapa foi empregado o meio de cultivo M4, que apresenta na sua composição a suplementação com micronutrientes- cloreto de cobalto, sulfato de ferro 2 e cloreto de níquel, sendo estes relatados na literatura como componentes importantes para o desenvolvimento do metabolismo anaeróbio. Diferentes concentrações de NaHCO_3 foram analisadas 0,0042 (0,0012 g HCO_3^- /g DQO), 1,0 (0,3 g HCO_3^- /g DQO) e 1,4 g/L (0,4 g HCO_3^- /g DQO) e a relação A/M estabelecida foi determinada pelas as relações entre DQO (mg/L) - (A) e SSV (mg/L) - (M) conforme Queiroz (2016), sendo estas de 0,10, 0,20 e 0,40.

Os experimentos avaliados estão apresentados na Tabela 3.1. Após preparo do meio M4 (NH₄Cl 0,164; K₂HPO₄ 0,00535; KH₂PO₄ 0,00322; MgSO₄.7H₂O 0,2; CaCl₂.2H₂O 0,1; extrato de levedura 0,5; FeCl₃.6H₂O 0,002; MnCl₂.4H₂O 0,0005; CoCl₂.6H₂O 0,002; Fe₂SO₄.7H₂O 0,0025; NiCl₂.6H₂O 0,00005 e NaHCO₃ PA com diferentes concentrações 0,0042; 1,4; e 1 g/L) e sua esterilização em autoclave a 121°C e a 1 atm (manométrica). O procedimento de inoculação dos reatores cônicos de bancada, de capacidade de 500 mL, seguiram o mesmo protocolo apresentado na adaptação do lodo anaeróbio, sendo alterado somente a composição do meio seguindo as concentrações empregadas de acordo com a Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Cronograma dos experimentos avaliados

Experimentos	Suplementação (CoCl ₂ .6H ₂ O, Fe ₂ SO ₄ .7H ₂ O, NiCl ₂ .6H ₂ O)	Relação A/M	Concentração NaHCO ₃ (g/L)	Concentração de NaHCO ₃ (g HCO ₃ /g DQO)
Exp.1	Sim	0,2	0,0042	0,0012
Exp.2	Sim	0,1	1,4	0,4
Exp.3	Sim	0,1	0,0042	0,0012
Exp.4	Sim	0,2	1,0	0,3
Exp.5	Sim	0,4	1,0	0,3

Os biorreatores foram mantidos sob agitação em mesa oscilatória a 150 rpm por 16 dias. Nos dias 0, 6, 9 e 16 foram analisados DQO, pH, alcalinidade e acidez e biodiesel por cromatografia gasosa. As análises de SSV foram realizados em 0 e 16 dias.

Aferição de Gases

Visando melhor aferição e quantificação dos gases gerados nesta etapa do processo foram realizados o mesmo experimento em frascos de penicilina. Foi empregado para este fim o meio M4, 5 g/L de biodiesel e inóculo na mesma concentração por volume adotado nos reatores cônicos de bancada e seguindo a Tabela 3.1. Após preparo do Meio M4, o meio foi adicionado a frascos de penicilina de 10 mL, borbulhado gás inerte para eliminação da presença de oxigênio sendo imediatamente tampados com rolhas de borracha e lacre de alumínio e em seguida esterilizados por 20 minutos a 1 atm (manométrica). Após resfriamento, adicionou-se C2 adaptado e decantado conforme Tabela 3.1, fez desaeração do sistema com gás inerte para eliminar o oxigênio dissolvido e adicionou-se 5 g/L de biodiesel. Adaptou-se a estes frascos seringas de 10 mL com agulha na tampa para aferir e

posteriormente quantificar os gases. Os frascos foram mantidos sob agitação em mesa oscilatória a 150 rpm por 16 dias a temperatura ambiente de $29^{\circ}\text{C}\pm 1$.

3.5.5 Experimento com reator UASB empregando lodo anaeróbio (C2)

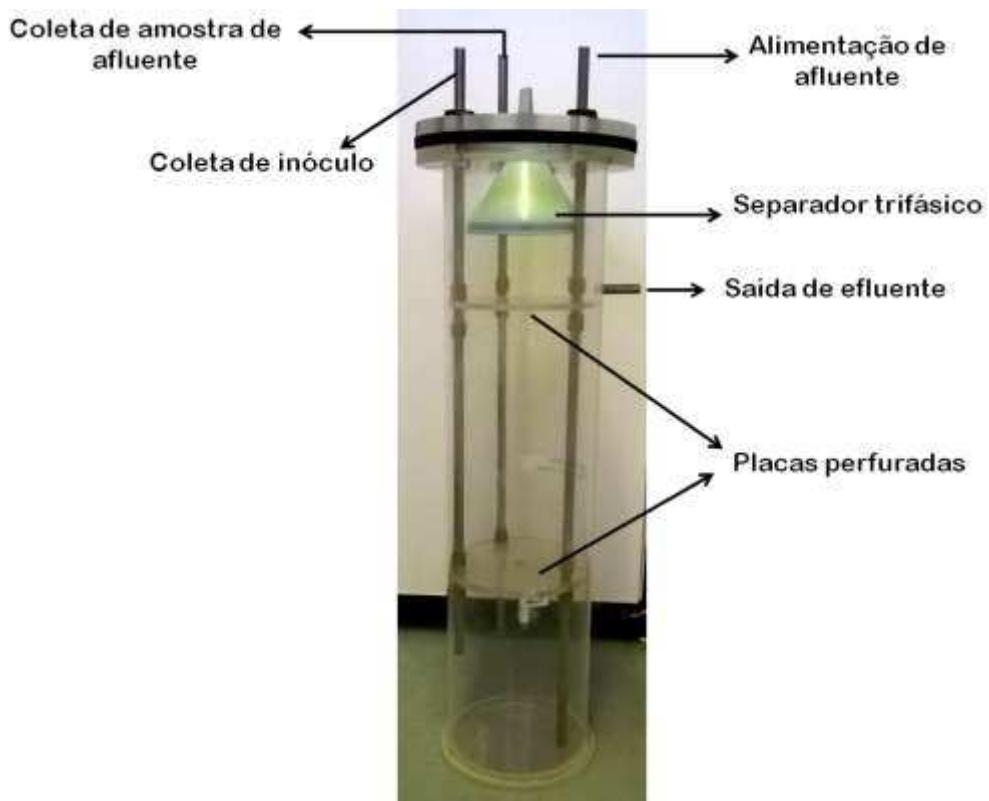
3.5.5.1 Reator UASB

A Figura 3.10 mostra em detalhes a configuração do reator UASB empregado nesta etapa do trabalho.

Dimensões do reator:

- Altura total do reator = 70 cm
- Diâmetro interno do reator = 14,5 cm
- Diâmetro externo do topo do reator = 20,0 cm
- Altura do funil de separação trifásico = 10,5 cm
- Diâmetro da base do funil de separação trifásico = 9,5 cm
- Altura da posição de entrada do reator (em relação à base) = 3,5 cm
- Altura da posição de saída do reator (em relação a base) = 47,5 cm

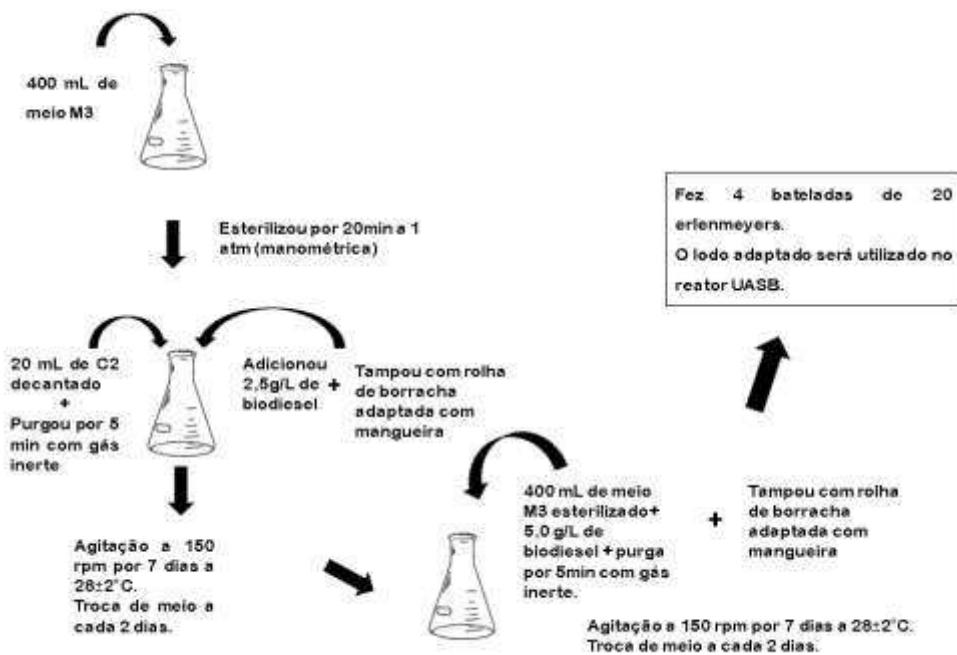
Figura 3.10 - Detalhes do reator UASB empregado nos experimentos



3.5.5.2 Aclimatação do lodo anaeróbio para o reator UASB

Nesta etapa foi preparado a adaptação do lodo C2 a 2,5 e 5 g/L de biodiesel ao meio M3 conforme item 3.5.2 (adaptação do lodo anaeróbio ao biodiesel), porém foi adicionado 400 mL de meio M3 e 20 mL de cultura C2 decantada em reatores cônicos de bancada de 500 mL. Cada adaptação durou 7 dias e realizou-se a troca de meio a cada 2 dias para remoção de substâncias tóxicas que poderiam interferir na adaptação. Fez 4 rodadas de adaptação, cada rodada utilizou-se 20 reatores cônicos de bancada. Em seguida, o inóculo adaptado foi utilizado no reator UASB. A Figura 3.11 ilustra o procedimento de preparo do lodo para o reator UASB.

Figura 3.11 - Esquema do procedimento de preparo do inóculo para o reator UASB



3.5.5.3 Inoculação e partida do reator UASB

As condições de operação utilizadas no reator UASB foram as do experimento 5 (Item 3.5.4), devido aos bons resultados obtidos: relação alimento/microrganismo igual 0,4, concentração de bicarbonato de sódio igual a 1 g/L e meio de cultivo (M4) suplementado com fontes de níquel, cobalto e ferro.

A inoculação do reator foi realizada em reator vazio, visando reduzir as perdas de lodo durante o processo de sua transferência e inoculação do reator. Adicionou na parte

inferior do reator 0,558 L de lodo anaeróbio adaptado e decantado - C2 para evitar turbulência e contato excessivo com o ar ambiente. O lodo C2 permaneceu em repouso por aproximadamente 24 horas, possibilitando sua adaptação às condições ambiente.

❖ **Etapa 1:**

Após o repouso do lodo C2, iniciou-se a primeira etapa de adaptação, alimentando-se o reator com efluente sintético contaminado por biodiesel até a metade do seu volume útil (4,1 litros). Em seguida, este permaneceu em repouso por 96 horas. Após esse período de repouso, coletou-se amostra de sobrenadante e analisou DQO, biodiesel por cromatografia gasosa de amostra líquida, pH e temperatura com intuito de verificar o grau de adaptação do lodo ao novo ambiente e ao efluente.

O efluente sintético contaminado com 5 g/L de biodiesel (Tabela 3.2) foi alimentado gradativamente no reator UASB com vazão volumétrica de 0,108 L/h por meio da bomba Masterflex - modelo 77201-60.

Vale salientar que, antes do início da alimentação, realizou-se a desaeração do efluente sintético com gás inerte argônio por 14 minutos e, em seguida, o reator foi tampado para evitar o contato com ar ambiente. No tanque de alimentação o efluente foi mantido sob agitação a $150 \pm 5,0$ rpm com auxílio de um agitador IKA RW 20 digital.

Tabela 3.2 - Composição do efluente sintético contaminado com biodiesel a 5 g/L

Composição (Meio M4)	(g/L)
NH ₄ Cl	0,164
K ₂ HPO ₄	0,00535
KH ₂ PO ₄	0,00322
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2
CaCl ₂ . 2H ₂ O	0,1
Extrato de Levedura	0,5
FeCl ₃ . 6H ₂ O	0,002
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,0005
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0,002
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,0025
NiCl ₂ .6H ₂ O	0,00005
NaHCO ₃ (correção do pH e tamponamento do meio)	1,0
Biodiesel	5,0

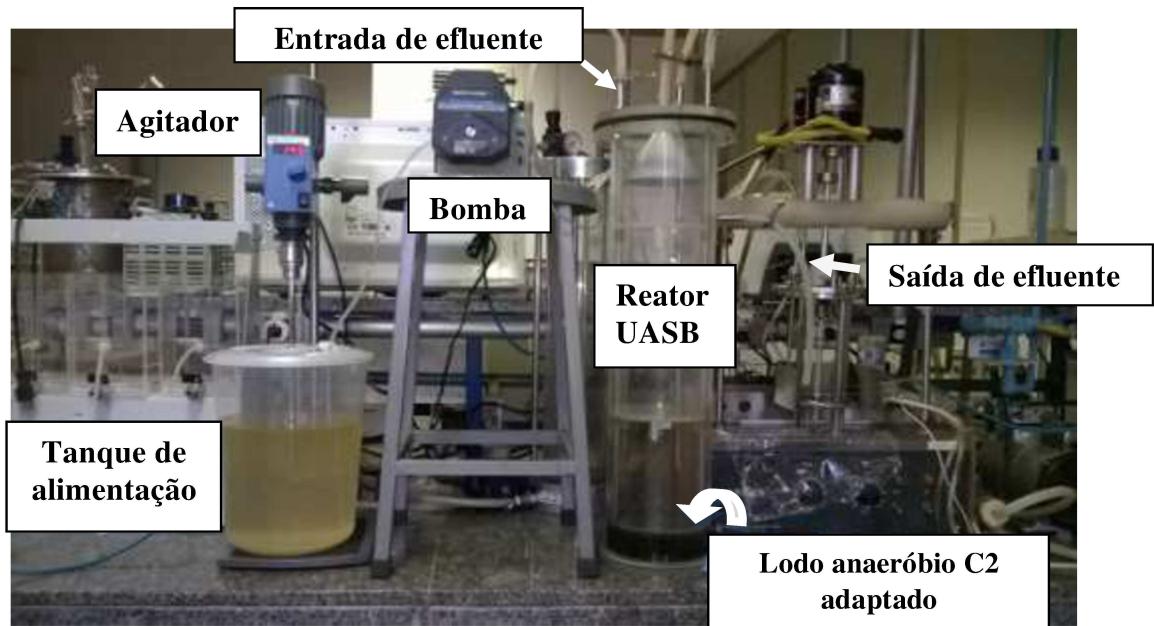
❖ **Etapa 2:**

Após a primeira etapa, procedeu-se o preenchimento de todo o volume útil do reator. Interrompeu a alimentação novamente para que o lodo C2 adaptasse gradativamente ao contaminante, pois no teste preliminar de adaptação do lodo a 5 g/L observou-se que o tempo necessário de adaptação seria de no mínimo 6 dias. Após 6 dias, coletou-se amostra de sobrenadante para análise de DQO, de biodiesel por cromatografia gasosa, pH, temperatura, alcalinidade e acidez e SSV para monitorar o processo de partida do reator.

Após essa etapa, iniciou-se a operação em batelada do reator por mais 16 dias. Vale salientar, que as condições operacionais empregadas nesta etapa do processo foram as mesmas obtidas nos experimentos anteriores, nos quais foram observados os melhores resultados de remoções de DQO, de biodiesel e de produção de metano (Item 3.5.4). Durante a batelada coletou-se amostras de sobrenadante para análise de DQO, de biodiesel, de pH, de temperatura, de alcalinidade e acidez. Fez-se aferição da vazão de biogás produzido com equipamento Milligascounter - Ritter e, posteriormente, realizou-se análise da composição do gás produzido. Calculou-se, também, o tempo de residência e analisou-se sólidos suspensos voláteis no início e no final do processo. Vale salientar que após coletar amostra de sobrenadante repôs o efluente coletado para manter o nível do volume útil do reator.

A seguir, a unidade experimental - operação batelada está ilustrada na Figura 3.12.

Figura 3.12 - Unidade experimental: operação batelada



3.6 ANÁLISES QUANTITATIVAS

3.6.1 Análise de DQO

A determinação de matéria orgânica foi realizada pelo método da Demanda Química de Oxigênio (DQO) conforme descrito no APHA (1998). No Anexo A está a descrição da metodologia empregada.

3.6.2 Análise de pH

O pH das amostras foi aferido em pHmetro digital PG2000, o qual foi calibrado previamente com soluções tampão de pH 4,0 e pH 7,0 conforme APHA (1998).

3.6.3 Determinação de massa seca

Para a massa seca, 20 mL de amostras coletados dos reatores foram centrifugados por 3x por 15 minutos, com lavagens com água destilada. A massa obtida foi colocada sobre vidro de relógio previamente pesado. O conjunto foi levado à estufa a 80°C e seco até peso constante. A massa foi quantificada após a pesagem e calculada sua respectiva concentração em g/L. Para a determinação da massa seca (ms), Equação 2, fez a diferença entre a massa do vidro de relógio com inoculo seco (mvi) e a massa do vidro de relógio vazio (mvv). Essa análise foi para verificar o desenvolvimento e a quantificação de células (APHA, 1998).

$$\text{massa seca (ms)} = \text{mvi} - \text{mvv} \quad (2)$$

3.6.4 Análise de biodiesel por cromatografia gasosa

Para a quantificação do biodiesel por meio da cromatografia gasosa foi necessário inicialmente realizar a extração do biodiesel da amostra com hexano PA. Para a extração foi empregado funil de separação de fases de capacidade de 60 mL, no qual foi adicionado volume pré-determinado de hexano e amostra. O sistema foi agitado até formação de emulsão e posteriormente foi deixado em repouso para a separação das fases. A fase orgânica foi recolhida para as análises de biodiesel. Após a extração do biodiesel foi necessário fazer diluição para a quantificação no CG, da seguinte maneira: coletou-se 100 µL de biodiesel

(fase orgânica) e transferiu-se para balão de 10 mL e completou-se com n-heptano PA. Em seguida, retirou-se 100 μ L do balão de 10 mL e transferiu-se para um balão de 1 mL. Neste balão foi adicionado 100 μ L de solução padrão interno (heptadecanoato de metila a 13000 mg/L, previamente preparado) e completou-se o balão com n-heptano PA.

Com as amostras preparadas, injetou-as no cromatógrafo a gás (Shimadzu- GC 2010). Para a determinação do percentual de ésteres, segundo a Equação 3, conforme as normas de determinação de ésteres de acordo com a EN 14 103 (2001).

Para a quantificação do éster foi empregado o detector de ionização de chama com coluna capilar RTX-Wax (Restek, 30 m, 0,32 mm i.d, 0,25 μ m d.f), injeção split (1:50), temperatura do injetor: 250 °C, volume injetado de 1 μ L, temperatura da coluna: 210 °C. Gás de arraste: hélio, com vazão de 30 mL/min.

$$\text{Ésteres (\%)} = \left(\frac{\sum A - A_{PI}}{A_{PI}} \frac{C_{PI}}{C_{amostra}} \right) * 100 \quad (3)$$

Sendo:

$\sum A$ = Somatório das áreas correspondentes aos picos dos ésteres (C14:0 a C24:0);

A_{PI} = Área do padrão interno (C17:0 – Heptadecanoato de metila);

C_{PI} = Concentração do Padrão Interno na amostra injetada (mg/L);

$C_{amostra}$ = Concentração da amostra injetada (mg/L).

3.6.5 Aferição e quantificação de biogás produzido

A composição foi determinada por cromatografia gasosa de acordo com o procedimento descrito por Moreira et al (2017). Sendo utilizado Cromatógrafo Shimadzu modelo GC 17-A, equipado com um detector de condutividade térmica e uma coluna capilar Carboxen 1010 (comprimento 30 m, diâmetro interno de 0,53 mm). O Argônio foi utilizado como gás de arraste. As temperaturas do injetor, da coluna e do detector durante as análises foram 230 °C, 30 °C e 230 °C, respectivamente. Os valores obtidos de metano (Equação 4) e gás carbônico (Equação 5) foram quantificados com o auxílio da curva de calibração.

$$y = 6795X + 1278 \quad (4)$$

$$y = 1957X - 2645 \quad (5)$$

Para a quantificação do número de mols formados de CH₄ e CO₂ foi realizada a conversão dos valores obtidos em volume (mL) para número de mols empregando a Equação 6 de Clayperon. Vale salientar que a unidade de volume obtida pela curva de calibração do biogás no Cromatógrafo Shimadzu modelo GC 17-A foi em mL, sendo necessária sua conversão para litros (L) para determinar número de mols de cada gás quantificado.

$$PV = nRT \quad (6)$$

Sendo:

$$T = 25^\circ\text{C}$$

$$P = 1 \text{ atm}$$

$$R = 0,082 \text{ atm.Lmol}^{-1}\text{K}^{-1}$$

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

As análises de sólidos suspensos totais (SST), fixos (SSF), voláteis (SSV) foram realizadas de acordo com a metodologia SABESP NTS 013 (1999). No Anexo B está descrita a metodologia.

3.6.7 Índice volumétrico de lodo (IVL)

A metodologia adotada para as análises de índice volumétrico de lodo (IVL) foram de acordo com APHA (1998). No Anexo C está descrita a metodologia.

3.6.8 Sedimentabilidade

Para a determinação da sedimentabilidade homogeneizou-se a amostra de lodo e adicionou-se 1 litro deste em um cone Imhoff de vidro e aguardou-se que ocorresse a sedimentação por 45 minutos. Após 45 minutos, passou-se o bastão de acrílico na borda do cone em movimento circular e no sentido de cima para baixo e aguardou-se por mais 15 minutos. Após este tempo realizou-se a leitura do volume de lodo decantado e calculou-se a sedimentabilidade (S) conforme descrito em APHA (1998). A Equação 7 apresenta a relação para o cálculo da sedimentabilidade.

$$S = \frac{\text{volume de lodo sedimentado}}{\text{volume total da amostra}} \quad (7)$$

3.6.9 Determinação de teor de acidez e alcalinidade por titulação

A determinação do teor de acidez e alcalinidade foi realizada seguindo os protocolos descritos na metodologia de APHA (1998). No Anexo D está descrita a metodologia. As soluções utilizadas para titulação foram preparadas conforme Morita e Assumpção (2007). A metodologia está descrita no Anexo E.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 EXPERIMENTOS COM CULTURA C1

4.1.1 Adaptação da cultura mista (C1) empregando aeração intermitente

Nesta etapa do trabalho, o critério de seleção adotado para a concentração de contaminante no meio foi de 7 dias nas concentrações de biodiesel de 2,5 a 20,0 g/L e de 14 dias para 50 g/L.

O trabalho de Lemos (2013) sobre tratamento de solo contaminado por biodiesel bruto verificou-se, por análise de remoção de DQO, que efluente com concentração superior a 20 g/L de biodiesel seria necessário dobrar o tempo de adaptação (de 7 para 14 dias) da cultura mista em meio líquido para obter remoção de no mínimo 60%. Desse modo, como a cultura mista seria a mesma utilizada pelo autor, optou-se por adotar a mesma técnica de adaptação ao meio líquido.

O crescimento microbiano foi observado visualmente, por meio do aumento gradativo da turbidez do meio para as concentrações iniciais de 2,5 a 50 g/L.

Na Figura 4.1 pode ser observado visualmente o crescimento microbiano pelo aumento gradativo da turbidez do meio nas concentrações de 5,0; 10,0 e 50 g/L de biodiesel.

Figura 4.1 - Aspecto a cultura mista C1 crescida em meio com concentrações crescentes de biodiesel



(A) Meio de cultivo esterilizado



(B) Meio fermentado e centrifugado para inoculação



(C) Meio de cultivo após inoculação e contaminação



(D) C1 após sete dias a cinco gramas/Litro de contaminante



(E) C1 após sete dias a 10 g/L de contaminante



(F) C1 após 14 dias a 50 g/L de contaminante

As Figuras de 4.2 a 4.4 mostram os resultados de remoção de DQO, concentração celular e pH, respectivamente, para a condição com 5 g/L de biodiesel em 14 dias de processo.

Figura 4.2 - Remoção de DQO para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 14 dias de processo

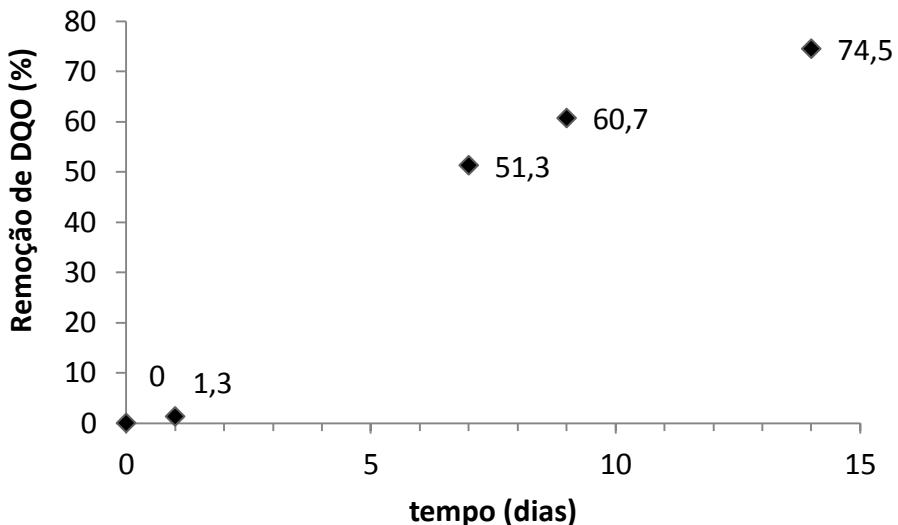


Tabela 4.1 - Resultados de remoção de DQO e seus desvios para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 14 dias de processo

Tempo (dias)	Remoção de DQO (%)
1	1,3±0,26
7	51,3±0,56
9	60,7±0,76
14	74,5±0,62

Pode-se observar por meio da Figura 4.2 e da Tabela 4.1, que a cultura mista C1 adaptou-se a concentração de biodiesel de 50 g/L, em meio líquido, promovendo remoção de DQO superior a 70%. Vale salientar, que o valor inicial da DQO foi de 39.990 mg/L atingindo um residual de 10397,4 mg/L, correspondendo a 74,5% de remoção de DQO. A adaptação da mesma cultura mista ao biodiesel em meio líquido no trabalho de Lemos (2013) obteve uma remoção média de DQO de 82% para concentração de 40 g/L de biodiesel e de 80% de remoção para a concentração de 60 g/L de contaminante, em 14 dias de aclimatação. Apesar da cultura mista facultativa está em estoque a mais de 10 anos e ter sofrido inúmeras réplicas, a mesma apresentou capacidade de adaptação ao biodiesel e de remoção de DQO próxima a 80%.

Ao analisar a Figura 4.3, pode-se verificar que houve crescimento celular, por turvação do meio verificada pelo aumento da concentração celular. Verifica-se pela Figura 4.3, que a concentração passou inicialmente de 0,75 g/L para 1,025 g/L em 14 dias de processo, mostrando que a cultura foi capaz de se adaptar na condição de aeração intermitente

empregando o meio de cultivo M1 contaminado com 50 g/L de biodiesel e 40 mL de inóculo centrifugado, oriundo do meio fermentado a 20 g/L de biodiesel, em reatores cônicos de bancada por 14 dias sob mesa agitadora a 120 rpm e aeração a cada 33 horas.

Figura 4.3 - Concentrações de células para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 14 dias de processo

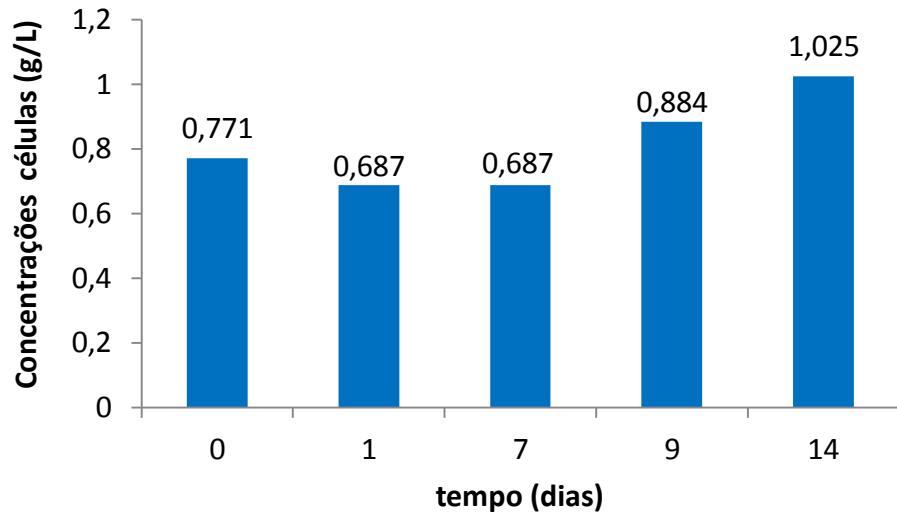
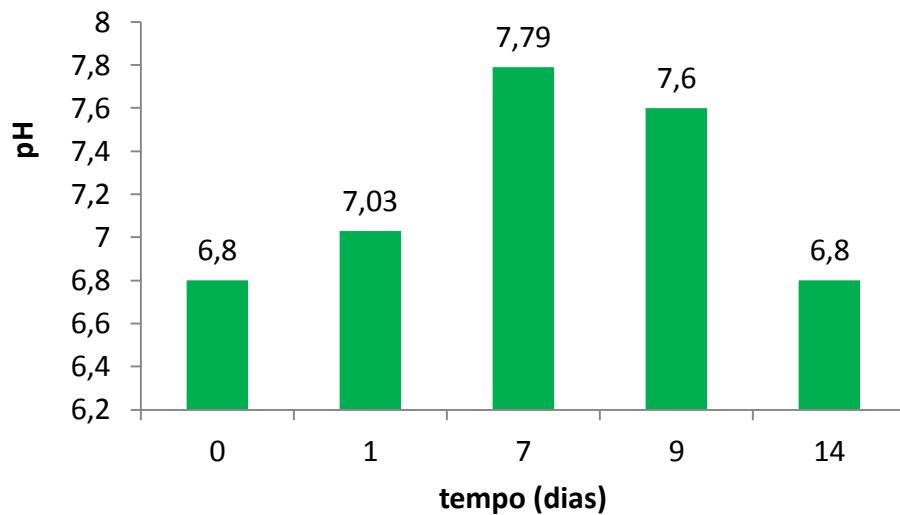


Figura 4.4 - Comportamento do pH ao longo dos 14 dias de processo



Ao analisar a Figura 4.4 verificou-se, que o pH inicial atingiu um valor máximo de 7,79 em 7 dias de processo retornando as condições iniciais em 14 dias de processo. Vale salientar, que nesta condição de maior valor de pH (7,79) (Figura 4.4) foi observado o menor valor de concentração celular (Figura 4.3) e a retomada do crescimento celular foi verificada a

medida que o pH atingiu valor próximo a neutralidade. Isto sugere, que para esta cultura C1 o valor de pH, para crescimento celular e remoção de DQO, seria próximo a neutralidade como pode ser observado ao analisar as Figuras 4.1 a 4.4. Na literatura sobre tratamento biológico de efluente indica que a faixa de pH adequada para os microrganismos é a neutra ou próxima a neutralidade (6,0 a 8,0) como por exemplo, no trabalho de Lemos (2013) foi desenvolvido a adaptação da cultura C1 em meio líquido na faixa de 7,0-7,2 e Brandão (2013) operou com pH inicial de 6,0, além disso ambos corrigiram o pH com solução de NaOH e HCl a 1 N.

4.1.2 Avaliação do comportamento de biodegradação com o tempo empregando aeração intermitente

As Figuras de 4.5 a 4.8 mostram os resultados de remoção de DQO, de remoção de biodiesel, de perfil da concentração de DQO, de concentração celular e de pH obtidos para a cultura C1 após adaptação ao longo de 28 dias de processo. Este período foi adotado para avaliação do comportamento de biodegradação ao longo do processo.

Figura 4.5 - Remoções de DQO e de biodiesel para a condição com 50 g/L de biodiesel em 28 dias de processo após etapa de adaptação

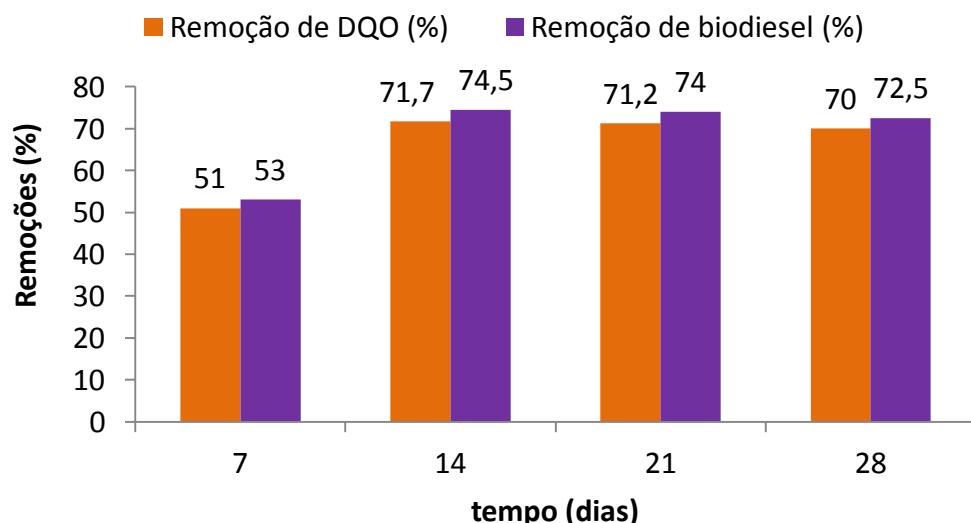


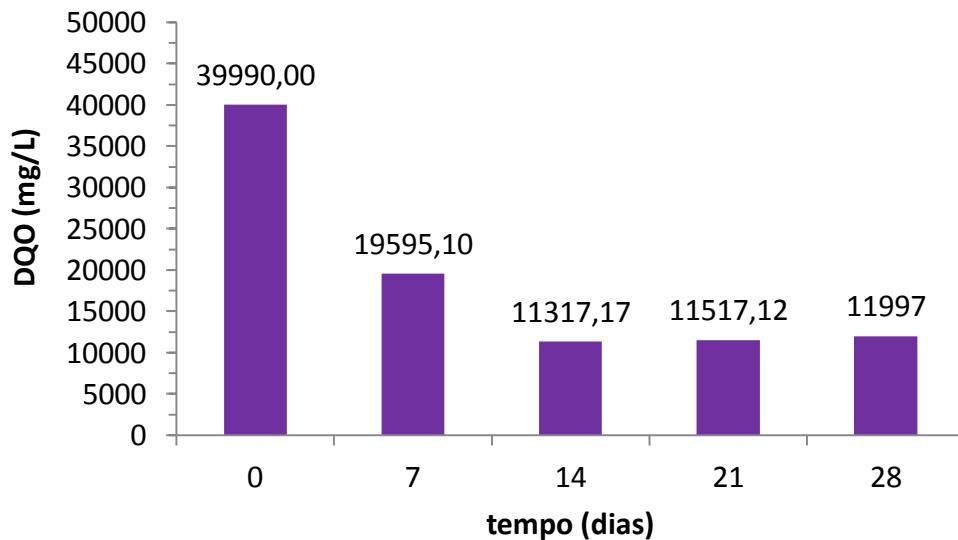
Tabela 4.2 - Resultados de remoções de DQO e de biodiesel para a condição de 50 g/L de biodiesel em 28 dias de processo após etapa de adaptação

Tempo (dias)	Remoções de DQO (%)	Remoções de biodiesel (%)
7	51,0±2,3	53,0±1,6
14	71,7±1,5	74,5±2,0
21	71,2±1,5	74,0±1,4
28	70,0±1,0	72,5±1,0

Analizando a Figuras 4.5 e a Tabela 4.2 pode-se verificar que foram obtidas remoções de DQO e de biodiesel máximas em 14 dias de processo com 71,7% e 74,5%, respectivamente.

A Figura 4.6 mostra o perfil da concentração de DQO obtida no período de 28 dias de processo.

Figura 4.6 - Perfil da concentração de DQO para a condição de 50 g/L de biodiesel em 28 dias de processo após adaptação



Vale salientar que a DQO inicial foi de 39990 mg/L e em 21 dias de processo atingiu o valor de 11517,12 mg/L (Figura 4.6).

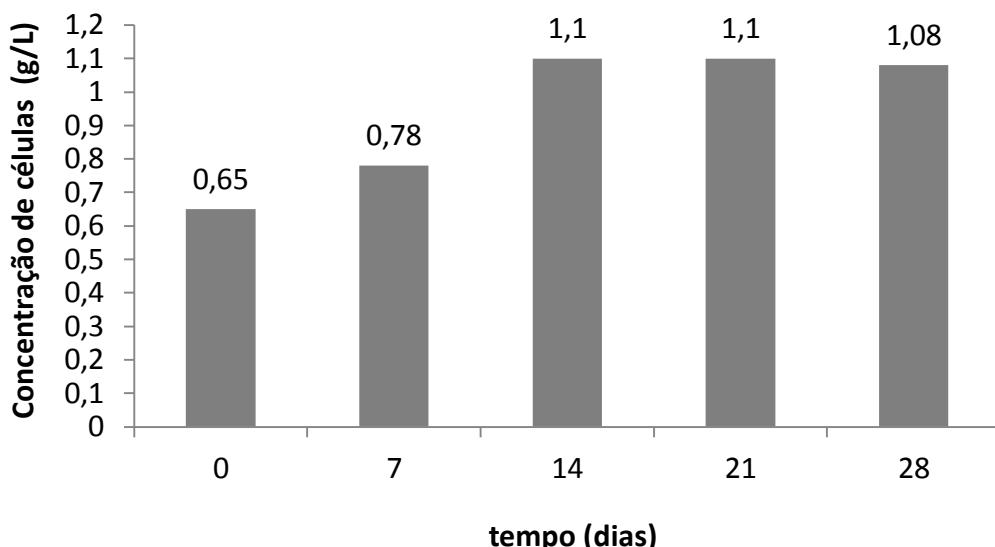
Além disso, observou-se que a extensão de dias de processo (até 28 dias) não foi favorável para promover maiores resultados de remoções de DQO e de biodiesel. Os resultados observados no tempo de 28 dias apresentaram-se praticamente constantes após os 21 dias.

A Figura 4.7 e a Tabela 4.3 apresentam o perfil de comportamento da concentração de biomassa ao longo do processo.

Tabela 4.3 - Resultado de concentração celular para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 28 dias de processo

Tempo (dias)	Concentração de células (g/L)
0	0,65 ± 0,15
7	0,78 ± 0,10
14	1,1 ± 0,07
21	1,1 ± 0,05
28	1,08 ± 0,08

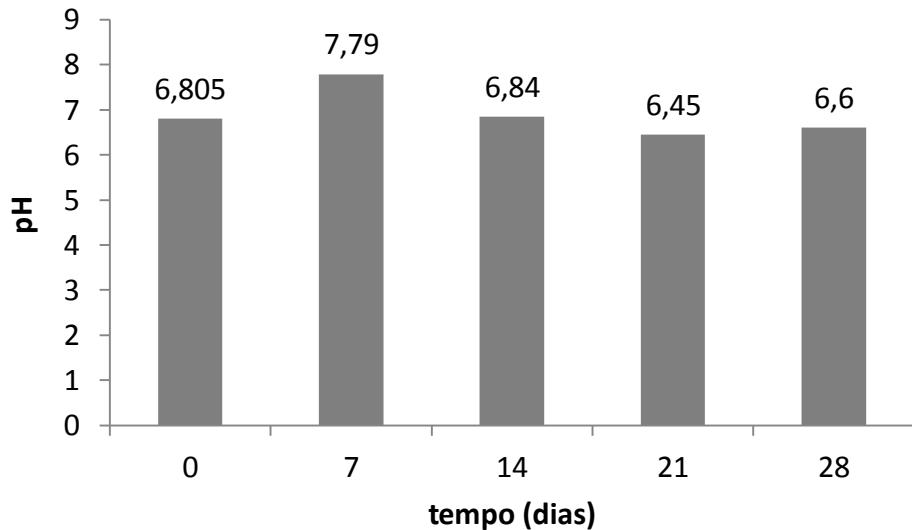
Figura 4.7 - Concentrações de células para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 28 dias de processo



Ao analisar a Figura 4.7 e a Tabela 4.3 observou-se, que o crescimento manteve-se praticamente constante a partir dos 21 dias de processo, o que justifica os comportamentos de remoções observadas, já que não houve crescimento celular e nem aumento de remoções.

De acordo com a Figura 4.8, pode-se verificar que o comportamento do pH seguiu durante o processo com valores próximos a neutralidade, com exceção no tempo de 7 dias de processo (7,79).

Figura 4.8 - Comportamento do pH ao longo dos 28 dias de processo



O motivo que pode justificar a diminuição das remoções de DQO e de biodiesel em 28 dias é a amostragem. Pois, foram analisadas diferentes amostras a cada coleta (amostras de sacrifício) que podem apresentar diferença no crescimento microbiano e consequentemente na biodegradação da matéria orgânica mesmo que o sistema de tratamento seja preparado nas mesmas condições.

4.1.3 Preparo do inóculo sob condições anaeróbias

Nesse experimento teve como objetivo avaliar a capacidade da cultura C1 facultativa em degradar o biodiesel sob condição anaeróbia após adaptação da mesma por aeração intermitente. Além disso, verificou-se se a extensão do tempo de processo melhoraria sua atuação na degradação do contaminante. Diante disso, obteve os resultados apresentados nas Figuras 4.9 a 4.12 e nas Tabelas 4.4 e 4.5, a seguir.

Figura 4.9 - Remoções de DQO e de biodiesel para a condição com 50 g/L de biodiesel em processo anaeróbio em 28 dias de processo empregando inóculo preparado sob aeração intermitente

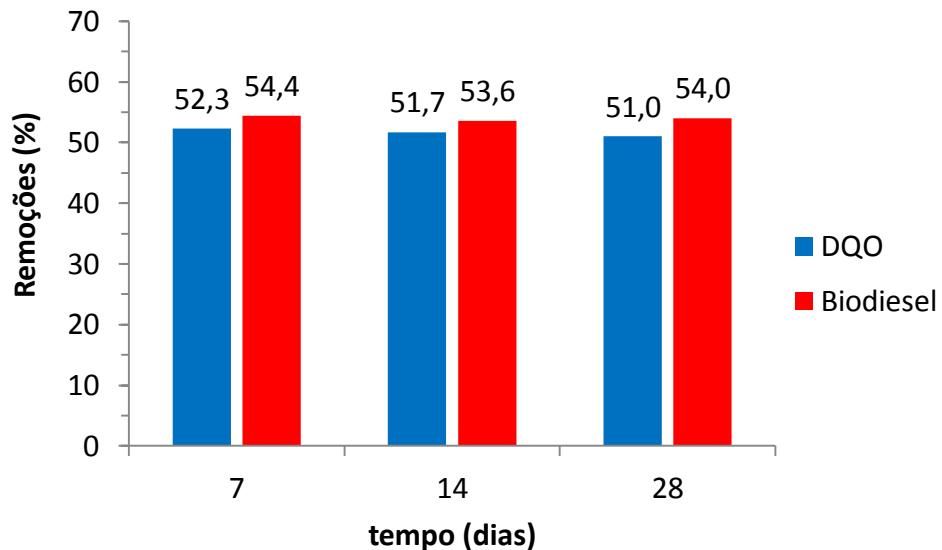


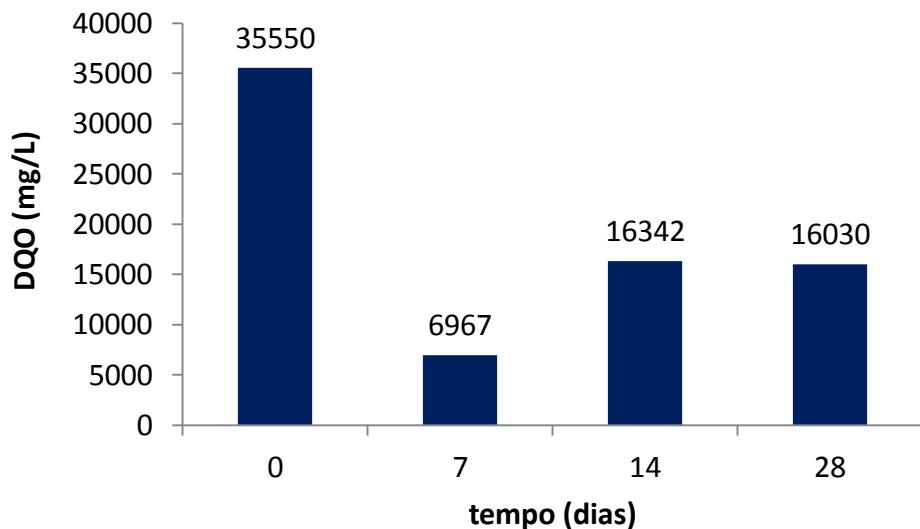
Tabela 4.4 - Resultados de remoções de DQO e de biodiesel com desvios para a condição com 50 g/L de biodiesel em processo em 7, 14 e 28 dias de processo empregando inóculo preparado sob aeração intermitente

Tempo (dias)	Remoções de DQO (%)	Remoções de biodiesel (%)
7	52,3±1,0	54,4±0,05
14	51,7±2,0	53,6±0,08
28	51,0±1,4	54,0±0,10

Ao analisar os resultados de remoções de DQO e de biodiesel na Figura 4.9 e na Tabela 4.4 na condição de 50 g/L de contaminação por biodiesel em 28 dias de processo, verificou-se que a cultura C1 atingiu o máximo de remoção em 7 dias de processo com 52,3% de remoção de DQO e 54,4% de biodiesel. Após este tempo não observou aumento nas remoções de DQO e de biodiesel.

A Figura 4.10 mostra o perfil da concentração de DQO obtida no período de 28 dias de processo.

Figura 4.10 - Valores de DQO para a condição com 50 g/L de biodiesel em processo anaeróbio em 0,7, 14 e 28 dias de processo empregando inóculo preparado sob aeração intermitente



Pela Figura 4.10, observou que a DQO inicial foi de 35550 mg/L e em sete dias de processo atingiu o valor de 6967 mg/L e a partir de 14 dias atingiu valores de 16000 mg/L aproximadamente.

A Figura 4.11 ilustra o crescimento celular ao longo do processo anaeróbio para a condição de 50 g/L de biodiesel.

Figura 4.11 - Crescimento celular determinado por SSV para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 0,7,14 e 28 dias empregando processo anaeróbio com inóculo obtido de processo com aeração intermitente

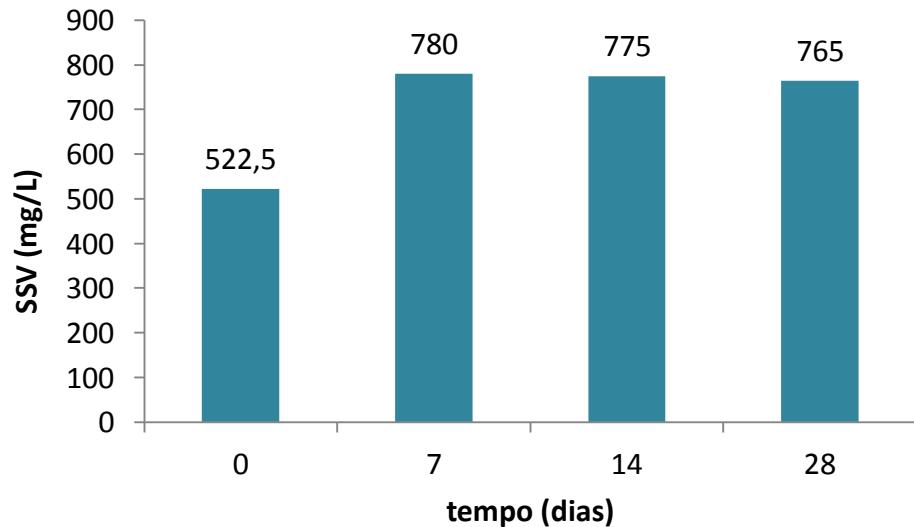
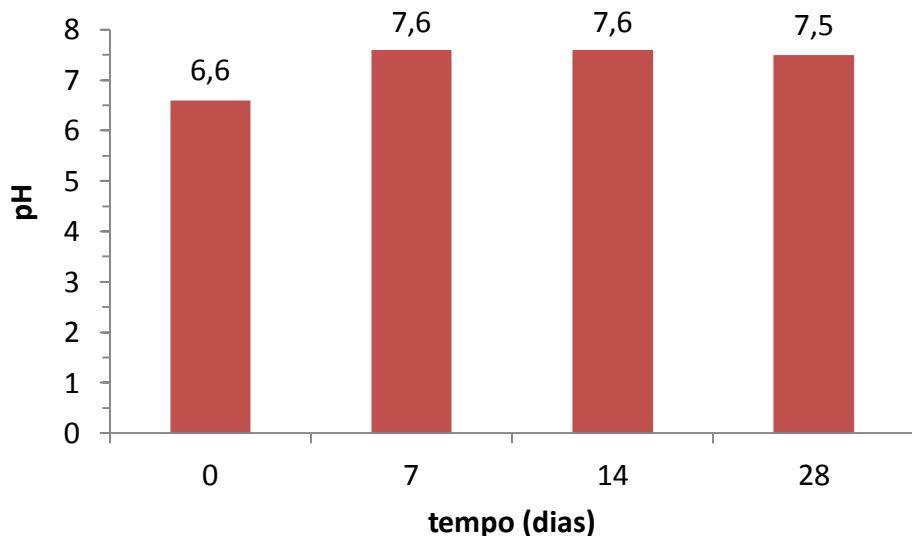


Tabela 4.5 - Resultados de crescimento celular com desvios determinado por SSV para a condição com 50 g/L de biodiesel, em 0, 7, 14 e 28 dias empregando processo anaeróbio com inóculo obtido de processo com aeração intermitente

Tempo (dias)	SSV (mg/L)
0	522,5±0,20
7	780±0,11
14	775±0,16
28	765±0,06

Por meio dos resultados de SSV apresentados na Figura 4.11 e na Tabela 4.5, pode-se verificar que houve crescimento da biomassa até 7 dias de processo com quedas a partir dos 14 dias de processo, o que condiz com o comportamento esperado de acordo com os resultados de remoção obtido em termos de queda.

Figura 4.12 - Valores de pH para a condição com 50 g/L de biodiesel em 0,7, 14 e 28 dias sob processo anaeróbio empregando inóculo preparado sob aeração intermitente



Em relação aos resultados de pH observou-se na Figura 4.12 que após o ajuste inicial do pH em 6,6 esta medida atingiu o valor de 7,6 em 7 dias permanecendo até os 14 dias com uma leve redução em 28 dias de processo (7,5). O pH inicial e o observado durante o processo está de acordo com a condição favorável para atuação dos microrganismos produtores de metano. Segundo Chernicharo (2007), os microrganismos produtores de metano apresentam uma faixa ótima de pH entre 6,6 e 7,4, mas a estabilidade é maior na formação de metano numa faixa mais ampla, entre 6,0 e 8,0. Valores de pH abaixo de 6,0 e acima de 8,3 precisam

ser evitados, pois esta condição pode vir a inibir completamente os microrganismos formadores de metano.

Em relação ao biogás produzido, ele foi verificado e mensurado por meio de seringas e apresentou produção média de 4,7 mL em sete dias de processo. Após esta adaptação foi obtido o inóculo necessário para a próxima etapa de avaliação.

4.1.4 Experimentos em condições anaeróbias: avaliação do efeito do tipo de processo de obtenção do inóculo na biodegradação do biodiesel

Como a cultura mista (C1) empregada neste estudo é facultativa e esta já foi empregada em outros trabalhos sob condições de aeração intermitente e anaeróbia, foi avaliado nesta etapa a possível capacidade da cultura C1 em biodegradar biodiesel sob condições anaeróbias. Visando viabilizar o processo, em anaerobiose, avaliou-se o efeito da preparação de inóculo sob condições de processo com aeração intermitente e em anaerobiose.

As Figuras 4.13 a 4.15 mostram os resultados obtidos de remoções de DQO e de biodiesel, SSV e pH.

Figura 4.13 - Comparação do perfil de remoção de biodiesel para a condição com 5 g/L de biodiesel, em 0,7, 14 e 28 dias sob processo anaeróbio empregando inóculo preparado sob condição anaeróbia e aeração intermitente

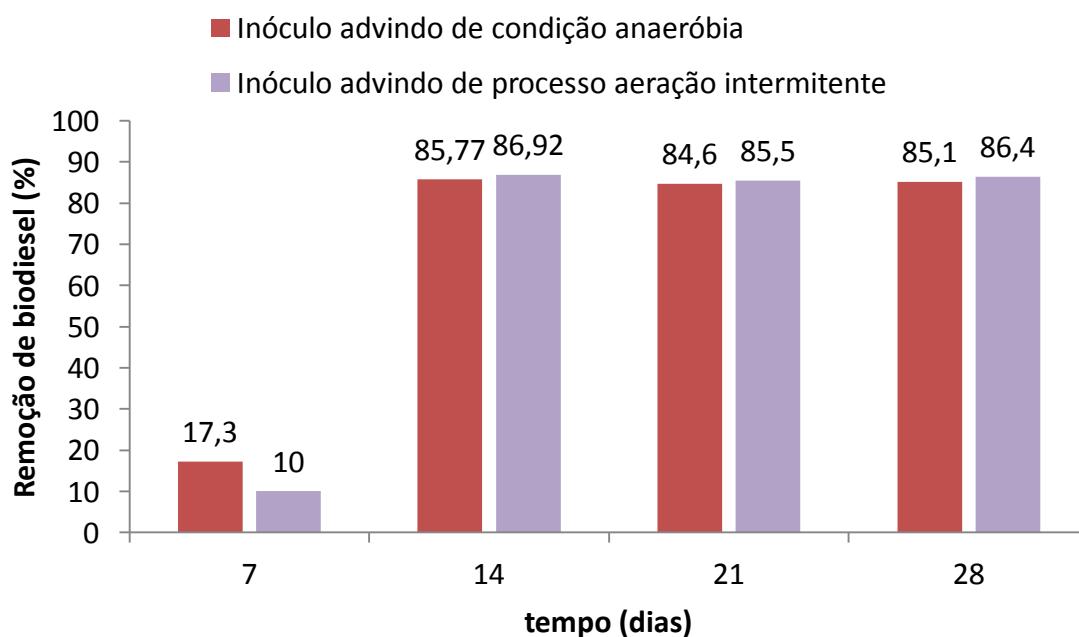


Tabela 4.6 - Resultados de remoções de biodiesel com desvios para a condição com 5 g/L de biodiesel, em 0, 7, 14 e 28 dias sob processo anaeróbio empregando inóculo preparado sob condição anaeróbia e aeração intermitente

Tempo (dias)	Remoção de biodiesel (%) (Inóculo Advindo de Condição Anaeróbia)	Remoção de biodiesel (%) (Inóculo Advindo de Condição Aeração Intermitente)
7	17,3 ± 1,5	10,0 ± 1,6
14	85,7 ± 2,5	86,9 ± 3,0
21	84,6 ± 1,4	85,5 ± 2,0
28	85,1 ± 1,8	86,4 ± 1,5

Por meio da Figura 4.13 e da Tabela 4.6 observou-se, que os valores máximos de remoção de biodiesel em 14 dias foram 85,7% e 86,9%, empregando o inóculo preparado sob condições anaeróbia e de aeração intermitente, respectivamente. A DQO inicial foi de 3550 mg/L para ambos os inóculos atingindo valores de 2179,7 e 1956 mg/L em 14 dias, empregando sob condição de aeração intermitente e anaeróbia, respectivamente. Isto mostra que as culturas são independentes do processo de preparo do inóculo, pois não afetou o processo de biodegradação sob condição anaeróbia, o que era esperado já que se trata de uma cultura facultativa. Mas, a potencialidade sob condição anaeróbia sugere-se ser avaliado uma vez que o propósito do trabalho era aplicar o processo anaeróbio visando a maior produção de metano.

Em locais contaminados por óleo diesel, o óleo diesel é de difícil degradação se comparado ao biodiesel, autores como De Mello et al. (2007); Pasqualino, Montadé e Salvadó (2006) e Ramos et al (2008) avaliaram que a adição de biodiesel em derramamentos subsuperficiais aumentaria a comunidade microbiana presente e aumentaria a remoção de compostos complexos constituintes do óleo diesel. Pois os ácidos orgânicos voláteis obtidos pela degradação do biodiesel serviam como alimentos para microrganismos aeróbios e anaeróbios já presentes. A presença das bactérias redutoras de sulfato foi o destaque, a qual apresentou capacidade de degradar o biodiesel e hidrocarbonetos.

Figura 4.14 - Comparação do crescimento celular por determinação de SSV para a condição com 5 g/L de biodiesel, em 0, 7, 14 e 28 dias sob processo anaeróbio empregando inóculo preparado sob aeração intermitente e na condição anaeróbia

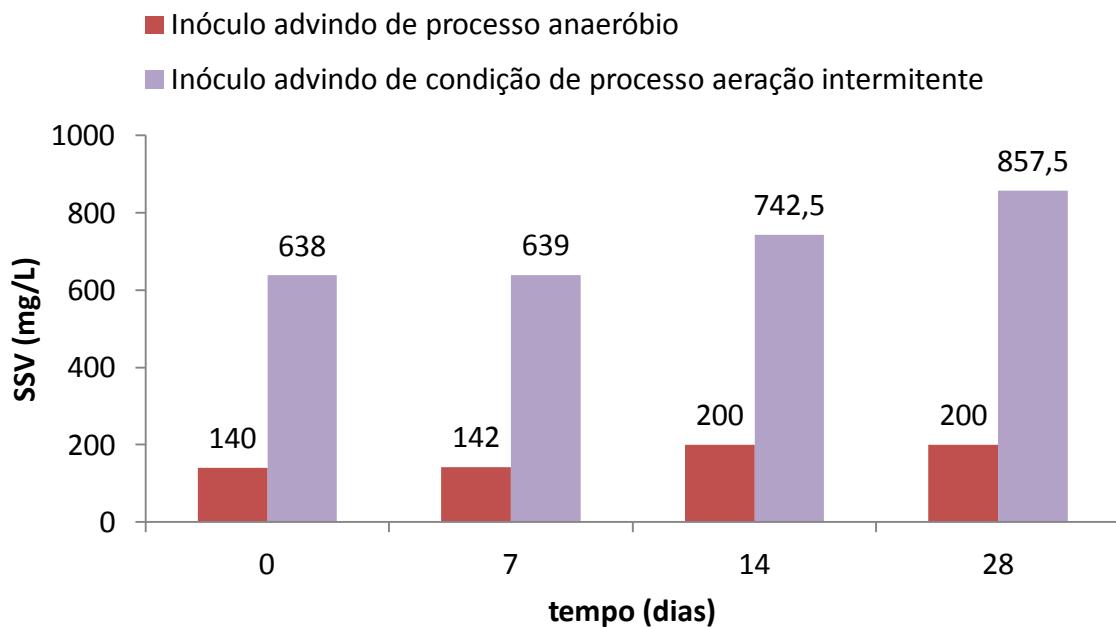
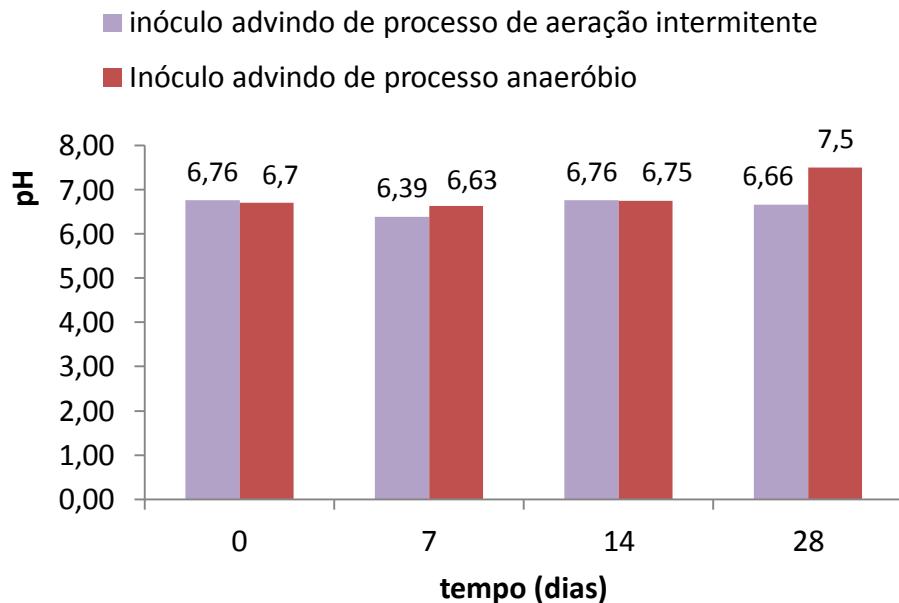


Tabela 4.7 - Resultados do crescimento celular com desvios por determinação de SSV para a condição com 5 g/L de biodiesel, em 0, 7, 14 e 28 dias sob processo anaeróbio empregando inóculo preparado sob aeração intermitente e na condição anaeróbia

Tempo (dias)	SSV (mg/L) (inóculo advindo de condição anaeróbia)	SSV (mg/L) (inóculo advindo de condição aeração intermitente)
7	140,0 \pm 0,25	638,0 \pm 1,5
14	142,0 \pm 0,15	639,0 \pm 0,9
21	200,0 \pm 0,30	742,5 \pm 1,4
28	200,0 \pm 0,18	857,5 \pm 1,6

Pode-se avaliar por meio da Figura 4.14 e da Tabela 4.7, que o inóculo da cultura advinda de processo sob aeração intermitente apresentou maiores concentrações de SSV quando comparado com a cultura advinda de condição anaeróbia. Este comportamento era esperado, uma vez que o aumento de biomassa oriunda de processo anaeróbio geralmente apresenta menor concentração de biomassa, pois a velocidade de crescimento das bactérias metanogênicas é extremamente lenta comparada à digestão aeróbia, apresentando baixa atividade metabólica e maior tempo de crescimento gerando menor volume de biomassa. O que pode ser favorável na separação entre o lodo e o líquido tratado (BARRERA, 1993).

Figura 4.15 - Comportamento de pH para a condição com 5 g/L de biodiesel, em 0, 7, 14 e 28 dias sob processo anaeróbio empregando inóculo preparado sob aeração intermitente e na condição anaeróbia



Pela Figura 4.15, verificou-se que o pH apresentou diminuição em 7 dias de processo ao empregar o inóculo advindo de aeração intermitente e em 14 dias o inóculo oriundo de processo anaeróbio. As variações verificadas oscilaram próxima a condição inicial de 6,7 e o máximo obtido foi de 7,5 em 28 dias para a condição empregando inóculo de fonte de processo anaeróbio. Em testes preliminares observou-se que o maior desempenho desta cultura em termos de crescimento e de remoção de biodiesel foi em pH na faixa de 6,6 – 6,8. Vale salientar, que nos testes preliminares nos quais não houve tamponamento do meio com bicarbonato de sódio foi verificado maior oscilação dos valores de pH, o que comprometeu o crescimento e a remoção de biodiesel. Portanto, verificou-se que o tamponamento do meio empregado beneficiou o tratamento.

Em termos da determinação da relação interação de alcalinidade e ácidos voláteis foram determinados os valores da relação AI/AP – AI (alcalinidade intermediária) e AP (alcalinidade parcial). Para todas as condições avaliadas os valores para a relação AI/AP foram superiores a 0,3, mostrando que durante os experimentos avaliados ocorreram distúrbios (sugere-se que a taxa de produção de ácidos voláteis está maior do que a taxa de consumo do mesmo, provocando acidificação do meio) no processo de digestão o que pode ter comprometido a produção efetiva de metano e consequentemente de biogás. Pelo método de quantificação do volume de biogás adotado (por meio das seringas) a produção máxima

verificada para ambas as condições testadas foi no 3º dia de processo com produção de 5,8 mL, posteriormente não foi verificada produção de biogás. De acordo com Foresti (1994) é possível que a estabilidade do processo ocorra para valores de AI/AP diferentes de 0,3, sendo prudente a verificação para cada caso em particular.

Apesar da cultura mista C1 ter apresentado potencial em biodegradar o biodiesel como contaminante do meio, após esta etapa a cultura C1 apresentou problemas na capacidade de biodegradação do contaminante prejudicando a continuidade de sua utilização nos demais passos desta dissertação. Devido a estes problemas optou-se por empregar uma nova cultura, sendo esta um lodo oriundo da unidade de tratamento anaeróbio de efluentes da Empresa Souza Cruz - Fábrica em Uberlândia – MG, sendo denominada de cultura C2 ou lodo C2.

4.1.5 EXPERIMENTOS COM O LODO (C2)

4.1.5.1 Caracterização do lodo biológico (C2)

O lodo biológico empregado neste estudo selecionado foi proveniente da Estação de Tratamento de Efluentes da Souza Cruz- Unidade de Uberlândia, devido aos bons resultados apresentados em trabalhos realizados anteriormente, no Laboratório de Tratamento de Efluentes da Faculdade de Engenharia Química – FEQUI/UFU.

O lodo biológico foi caracterizado em termos de sedimentabilidade, índice volumétrico de lodo (IVL), sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV). Os resultados obtidos encontram-se sumarizados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 - Resultados da caracterização do lodo C2

Parâmetros	Valores
Sedimentabilidade (mL/L)	700
IVL (mL/g)	11,4
Sólidos Suspensos Totais (mg/L)	72065,0
Sólidos Suspensos Voláteis (mg/L)	54742,5
Sólidos Suspensos Fixos (mg/L)	17322,5

4.1.5.2 Adaptação do lodo biológico (C2)

Na adaptação do lodo foi empregado o meio denominado M3 de acordo com a literatura de Chernicharo (2007) e Brandão (2013) visando atender as necessidades metabólicas do lodo originalmente anaeróbio.

O lodo foi adaptado durante 16 dias em cada concentração, com troca de meio a cada 2 dias de processo, visando acelerar o processo de adaptação por menor efeito de inibição. Esta estratégia foi adotada por Brandão (2013) em seu trabalho de remoção de cromo (VI) e carbono orgânico total em biorreatores híbridos sequencias.

As Figuras 4.16 a 4.20 apresentam os resultados obtidos de remoções de DQO, de biodiesel, valores de DQO, SSV e pH, nesta ordem, durante a etapa de adaptação do lodo às concentrações crescentes de biodiesel (2,5; 5,0 e 7,5 g/L).

As Tabelas 4.9 a 4.11 mostram os resultados de remoções de DQO, de biodiesel e concentração celular por meio de SSV.

Figura 4.16 - Comportamento da remoção de DQO empregando troca de meio a cada 2 dias de processo e concentrações crescentes de biodiesel

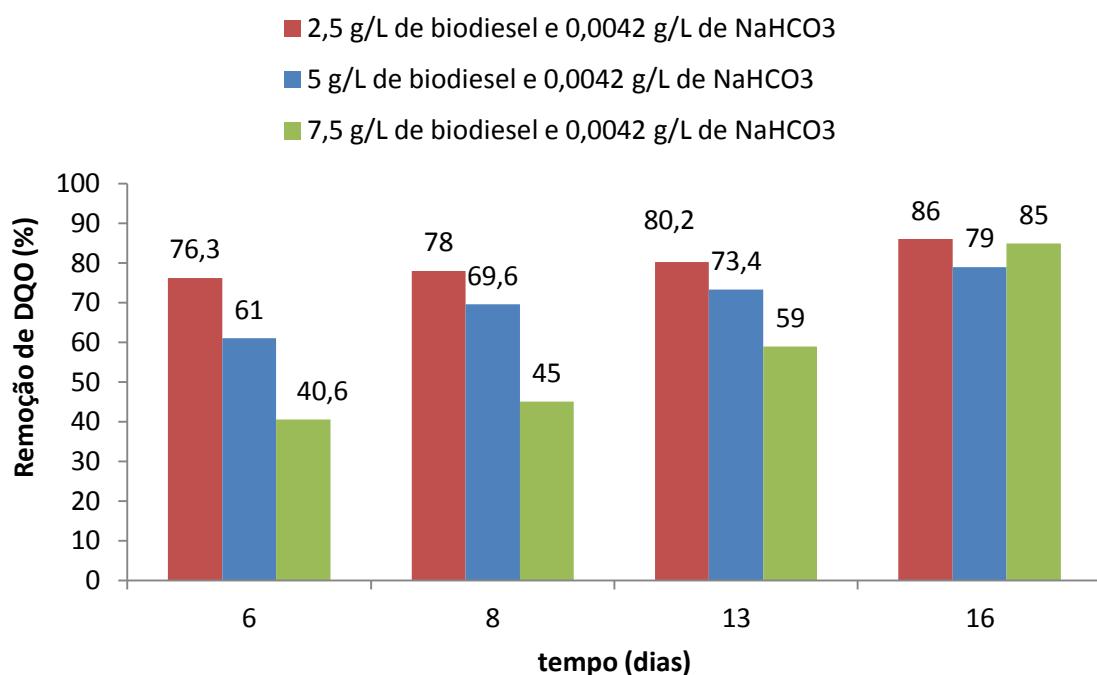


Tabela 4.9 - Resultados de remoções de DQO com desvios empregando troca de meio a cada 2 dias de processo e concentrações crescentes de biodiesel

Tempo (dias)	Remoção de DQO (%)		
	Empregando 2,5 g/L de Biodiesel	Empregando 5,0 g/L de Biodiesel	Empregando 7,5 g/L de Biodiesel
6	76,3 ± 2,4	61,0 ± 1,6	40,6 ± 3,0
8	78,0 ± 1,6	69,6 ± 2,4	45,0 ± 1,5
12	80,2 ± 1,0	73,4 ± 1,5	59,0 ± 2,0
16	86,0 ± 2,0	79,0 ± 3,0	85,0 ± 1,6

Figura 4.17 - Comportamento da DQO em empregando troca de meio a cada dois dias de processo e concentrações crescentes de biodiesel

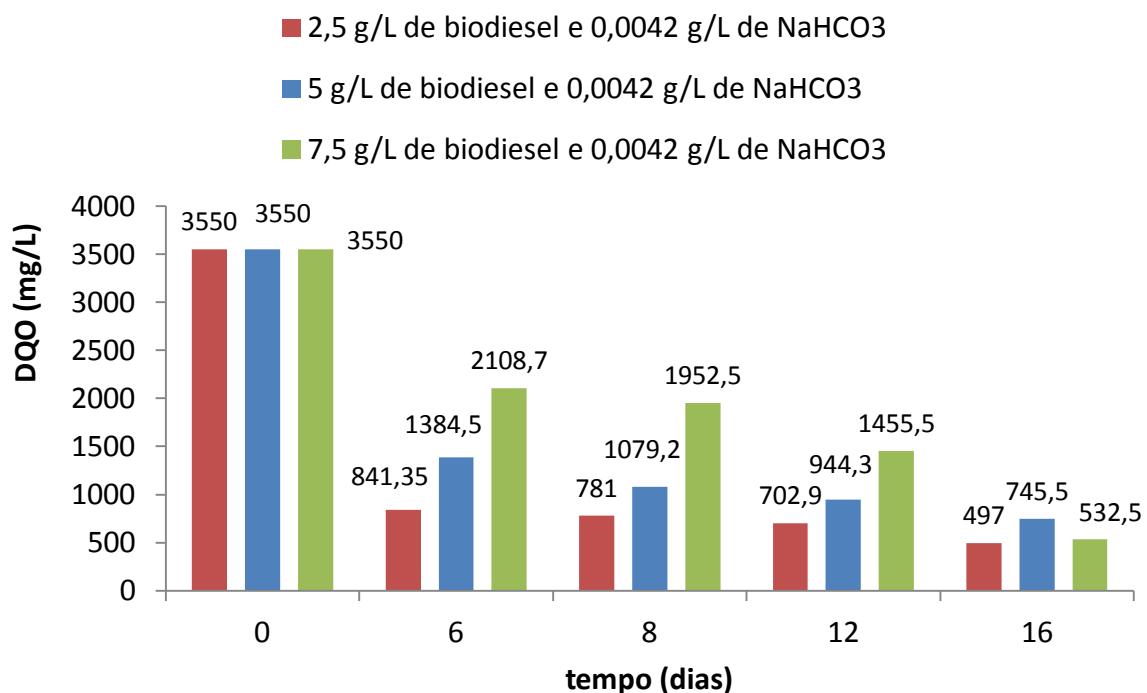
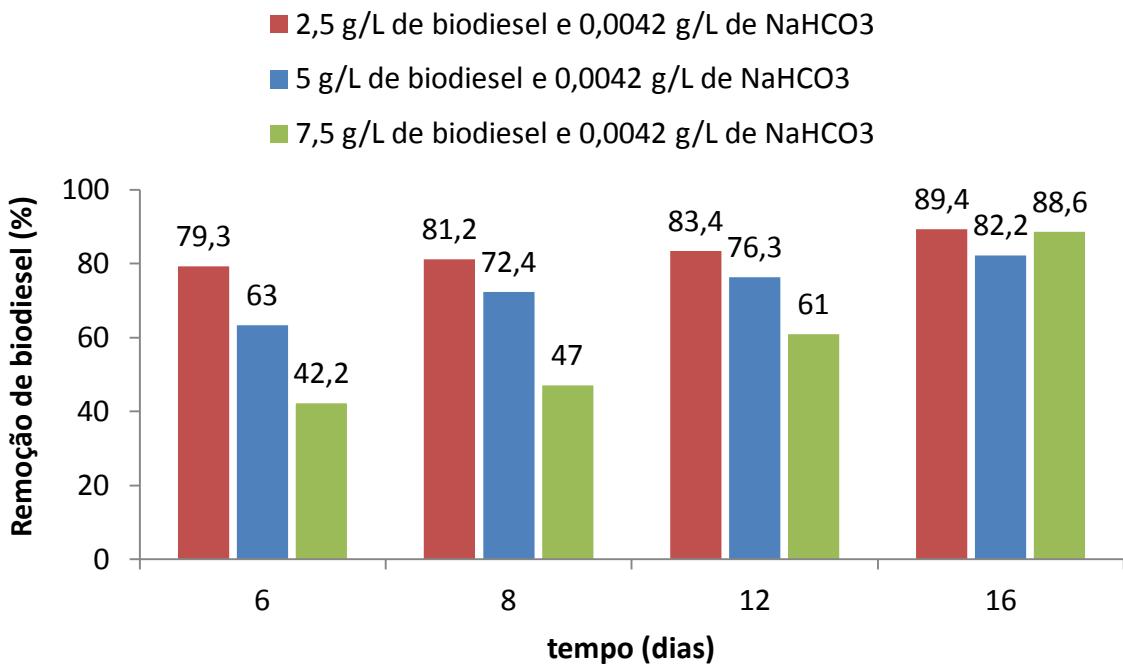


Tabela 4.10 - Resultados de remoções de biodiesel com desvios empregando troca de meio a cada 2 dias de processo e concentrações crescentes de biodiesel

Tempo (dias)	Remoção de Biodiesel (%)		
	Empregando 2,5 g/L de Biodiesel	Empregando 5,0 g/L de Biodiesel	Empregando 7,5 g/L de Biodiesel
6	79,3 ± 1,5	63,4 ± 3,0	42,2 ± 1,8
8	81,2 ± 1,0	72,4 ± 1,7	47,0 ± 2,6
12	83,4 ± 1,8	76,3 ± 1,4	61,0 ± 3,0
16	89,4 ± 3,0	82,2 ± 2,6	88,6 ± 1,5

Figura 4.18 - Comportamento da remoção de biodiesel empregando troca de meio a cada 2 dias de processo e concentrações crescentes de biodiesel



Ao analisar as Figuras 4.16 e 4.18, observou-se que a remoção de DQO e de biodiesel foram crescentes ao longo do processo com as reposições de meio. O maior percentual de remoção de DQO e de biodiesel foi obtido para a concentração de 2,5 g/L de biodiesel em 6 dias de processo. Essa maior remoção pode estar associada a menor concentração de contaminante no meio. O efeito do aumento da concentração de biodiesel refletiu no aumento de tempo para se atingir a remoção de DQO (76,3%) e de biodiesel (79,3%) obtida na menor concentração de biodiesel empregada 2,5 g/L. Pois, na concentração de 5,0 g/L de biodiesel atingiu-se a remoção de DQO e de biodiesel próximo a 76% e 79,3% (condição atingida empregando 2,5 g/L) em 12 dias de processo e ao se empregar a concentração de 7,5 g/L de biodiesel os valores mais próximos a estes foram obtidos em 16 dias de processo. Além disso, os perfis mostrados nas Figuras (4.16 e 4.18) mostram que o lodo foi capaz de se adaptar ao biodiesel nas concentrações avaliadas. As remoções finais de DQO e de biodiesel atingidas em 16 dias de processo para as concentrações de biodiesel de 2,5, 5,0 e 7,5 g/L foram, nesta ordem: 86, 79, 85% e 89,4, 82,2, 88,6%, respectivamente. Estes resultados finais atingidos foram satisfatórios por atingirem valores superiores a 80%.

Ao comparar os resultados de remoções de biodiesel obtido na condição de 5 g/L de biodiesel na adaptação do lodo (cultura C2) com a cultura mista (C1) (85,1%) em teste realizado após a adaptação na mesma condição de operação (Item 4.1.4, Figura 4.13),

verificou-se que o resultado de remoção de 82,2% empregando lodo C2 foi próximo ao obtido empregando a cultura C1 (em condição anaeróbia) com 85,1%. Isso mostra que o lodo apresentou boa adaptação nesta concentração de biodiesel sendo o objetivo deste estudo.

Os altos valores de remoções obtidos nas Figuras 4.16 e 4.18 podem ser justificados pelo aumento crescente verificado nas medidas de SSV, de acordo com a Figura 4.19.

Figura 4.19 - Comportamento de SSV no início e no final do processo para as concentrações de biodiesel testadas

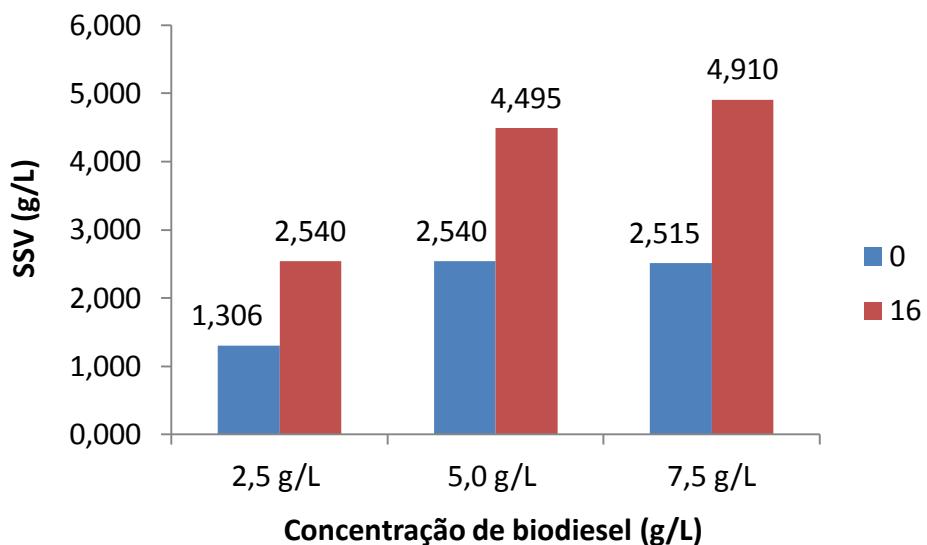


Tabela 4.11 - Resultados de SSV com desvios no início e no final do processo para as concentrações de biodiesel testadas

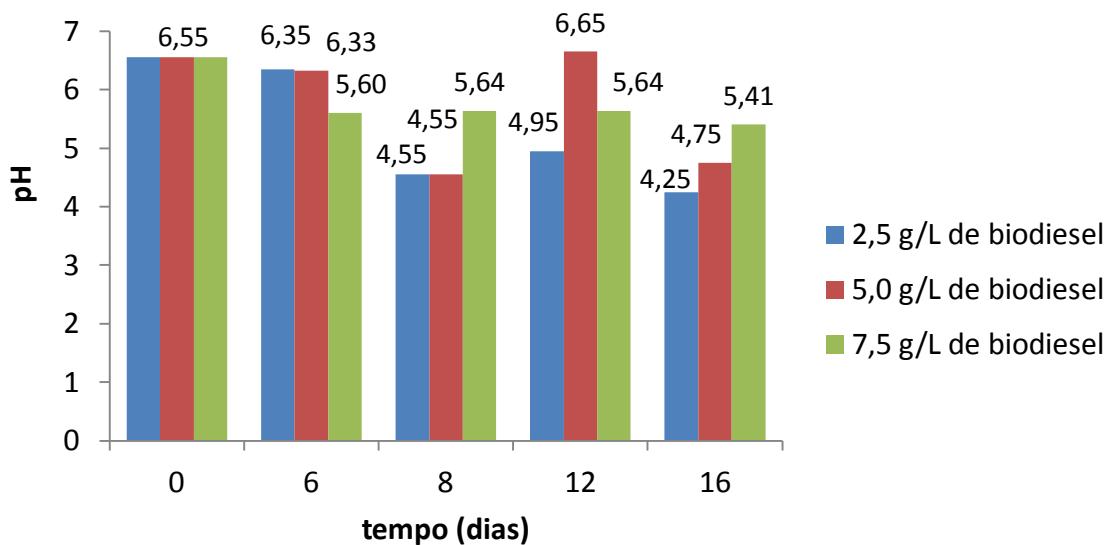
Tempo (dias)	SSV (g/L)		
	Empregando 2,5 g/L de Biodiesel	Empregando 5,0 g/L de Biodiesel	Empregando 7,5 g/L de Biodiesel
0	$1,306 \pm 0,25$	$2,540 \pm 0,55$	$2,515 \pm 0,28$
16	$2,540 \pm 0,40$	$4,495 \pm 0,35$	$4,910 \pm 0,44$

O trabalho de WU et al (2015) teve como objetivo avaliar a biodegradação anaeróbia do biodiesel oriunda do óleo de soja sob condições metanogênicas na ausência e na presença de óleo diesel em diferentes concentrações. A concentração de biodiesel aumentou gradualmente de 0,52 g/L a 2,45 g/L durante 15 meses. O pH foi controlado com agente tamponante no valor $7,0 \pm 0,2$ e o efluente foi suplementado com solução de micro e macronutrientes (cloreto de cálcio, nitrogênio, níquel, cobalto, magnésio, zinco, sulfatos como fonte de manganês e cobre, fosfato como fonte de fósforo e outros nutrientes) em um frasco a parte com vazão 0,25 L/d. A solução de suplementação foi purgada por 5 minutos com gás nitrogênio. Para verificação do potencial bioquímico de metano preparou

garrafas de 60 mL com 20 mL de efluente, 20 mL de solução de nutrientes 15 mL de biodiesel e diferentes concentrações de óleo diesel 0, 0,5, 1, 2,5, 5, 7,5,15, 30 e 45 ml. Para todas as concentrações de biodiesel apresentou remoção de DQO acima de 95% e as frações de petróleo não foram degradadas sob condições metanogênicas, mas ocorreu acúmulo no interior do sistema e redução na formação de metano e a degradação do biodiesel. Apresentou formação crescente de metano conforme o aumento da concentração de biodiesel. Foi empregado inóculo adaptado ao biodiesel e inóculo adaptado ao biodiesel na presença de diesel, sendo esse menos sensível a presença de petróleo.

A Figura 4.20 mostra o perfil do pH quantificado ao longo do processo durante a etapa de adaptação.

Figura 4.20 - Comportamento de pH ao longo do processo para as concentrações de biodiesel testadas



De acordo com os resultados apresentados na Figura 4.20, observou-se como comportamento geral a queda nos valores de pH com o tempo para todas as condições avaliadas com exceção da condição empregando 5,0 g/L de biodiesel em 12 dias de processo, no qual ocorreu um aumento do pH para próximo da neutralidade (6,7). Além disso, ao final do processo em 16 dias o pH do meio atingiu valores de 4,25 (2,5 g/L de biodiesel), 4,74 (5,0 g/L de biodiesel) e 5,41 (7,5 g/L de biodiesel), respectivamente. Estes valores comprovam que houve elevada atividade metabólica, pois foi neste tempo que se atingiu os maiores valores de remoção de DQO e de biodiesel, de acordo com as Figuras 4.16 e 4.18.

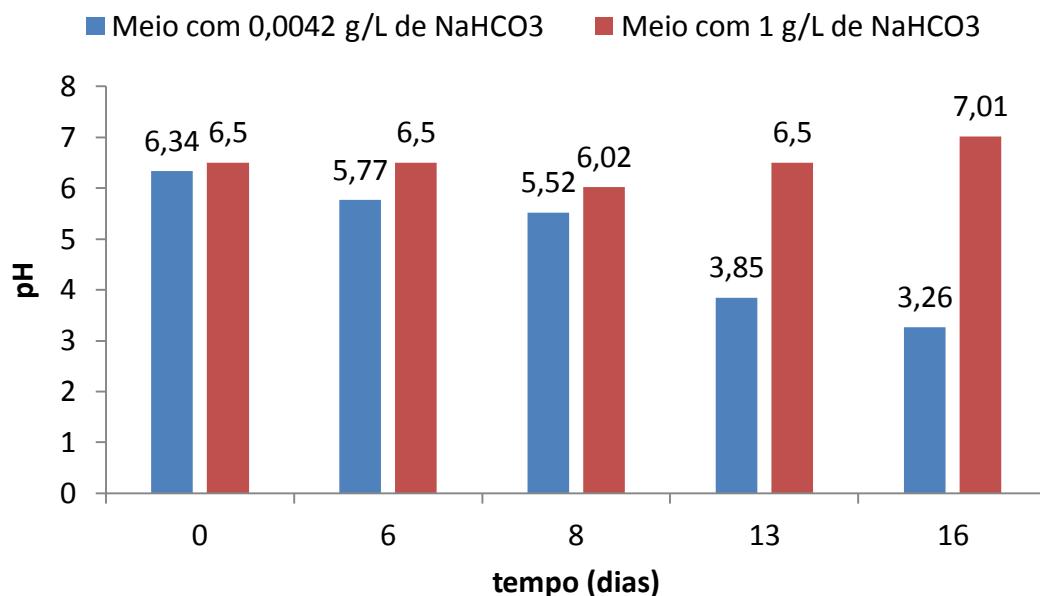
Sugere-se, também, que devido o aumento da concentração de contaminante pode ter gerado o acúmulo de ácidos orgânicos voláteis, pois as bactérias acidogênicas atuam na faixa de pH de 5,0 a 6,0, com isso a concentração de 0,0042 g/L de bicarbonato de sódio pode não ter sido o suficiente para a neutralização dos ácidos formados.

4.1.5.3 Experimento de biodegradação do biodiesel a 5 g/L empregando C2 adaptado

Os resultados de pH (Figura 4.21), de concentrações de SSV (Figura 4.22 e Tabela 4.12) e de remoções de DQO e de biodiesel (Figuras 4.23 e 4.24), apresentados nesta etapa referem-se aos experimentos conduzidos com 5 g/L de biodiesel empregando C2 adaptado em 16 dias de processo, sem reposição de meio (M3) + biodiesel, com as relações de NaHCO_3 de 0,0012 g HCO_3^- /gDQO (0,0042 g/L) e 0,3 g g HCO_3^- /gDQO (1,0 g/L). Estes experimentos foram empregados para verificação inicial do efeito da suplementação com bicarbonato de sódio na biodegradação e na geração de metano.

A maior concentração de NaHCO_3 foi testada, pois observou-se que nos resultados de adaptação do lodo C2 (item 4.1.5.2 - Figura 4.20, condição 5,0 g/L de biodiesel) que a quantidade empregada deste neutralizante não promoveu a estabilidade no pH para a promoção da produção de metano, pois o pH variou de 6,55 a 4,55. A produção de metano ideal ocorre na faixa de 6,6-7,4 (Chernicharo 2007). Segundo Chernicharo (2007) pode-se conseguir estabilidade, na formação de metano numa faixa mais ampla de pH entre 6,0-8,0. Valores de pH abaixo de 6,0 e acima de 8,3 devem ser evitados, uma vez que podem inibir por completo os microrganismos formadores de CH_4 .

Figura 4.21 - Comportamento do pH em função do tempo de processo para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio



Ao analisar a Figura 4.21, verificou-se que a maior suplementação com NaHCO₃ (0,3 gHCO₃⁻/gDQO ou 1 g/L de NaHCO₃) promoveu estabilidade do pH entre 6,02-7,01, faixa esta recomendada para favorecimento da produção de metano pelos microrganismos metanogênicos.

Figura 4.22 - Comportamento da concentração SSV em função do tempo de processo para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio

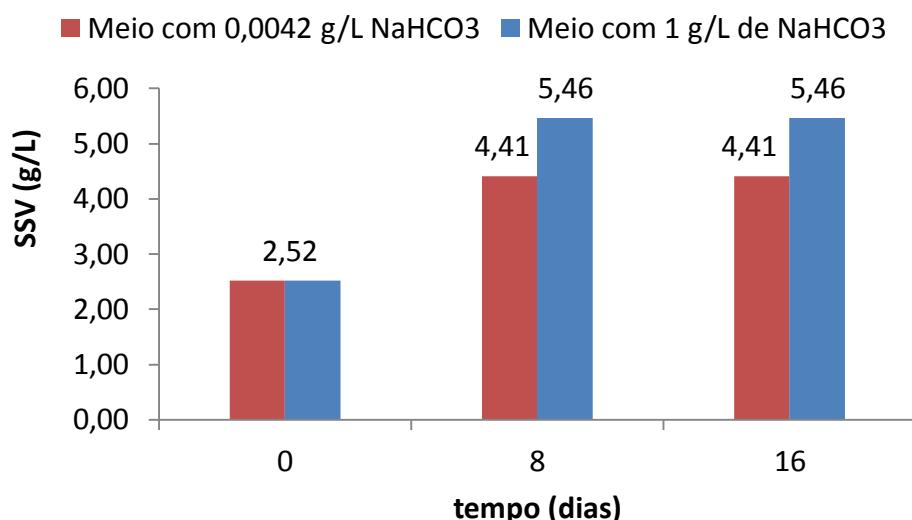


Tabela 4.12 - Resultados das concentrações de SSV em função do tempo de processo e seus desvios para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio

Tempo (dias)	Concentração SSV (g/L)	
	Meio com 0,0042 g/L NaHCO ₃	Meio com 1,0 g/L NaHCO ₃
0	2,515 ± 0,28	2,515 ± 0,32
8	4,410 ± 0,32	5,460 ± 0,25
16	4,410 ± 0,25	5,460 ± 0,20

A estabilidade do pH observada com a suplementação de 1 g/L de NaHCO₃ proporcionou o maior crescimento dos microrganismos como observado pelos resultados de SSV apresentados na Figura 4.22 e na Tabela 4.12, comparativamente com a menor concentração de NaHCO₃ empregada 0,0012 gHCO₃⁻/gDQO (0,0042 g/L).

Figura 4.23 - Comportamento das remoções de DQO em função do tempo de processo para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio

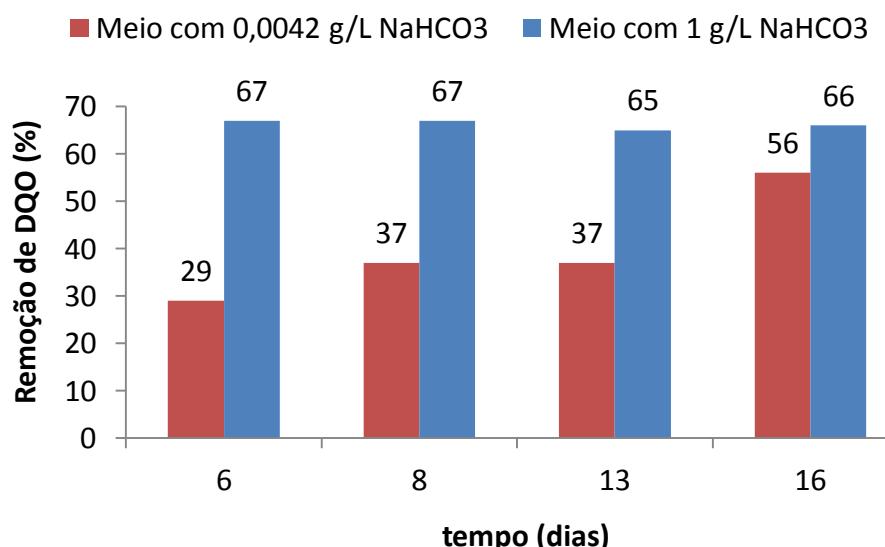


Tabela 4.13 - Resultados de remoções de DQO em função do tempo de processo para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio

Tempo (dias)	Remoções de DQO (%)	
	Meio com 0,0042 g/L NaHCO ₃	Meio com 1,0 g/L NaHCO ₃
6	29,0 ± 1,6	67,0 ± 3,0
8	37,0 ± 2,0	67,0 ± 1,4
13	37,0 ± 1,0	65,0 ± 1,5
16	56,0 ± 2,5	66,0 ± 1,6

Figura 4.24 - Comportamento das remoções de biodiesel em função do tempo de processo para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio

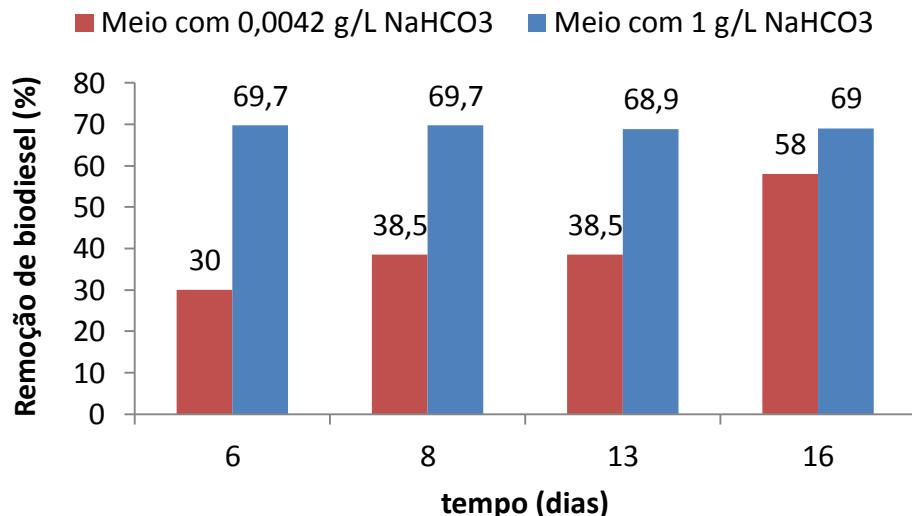


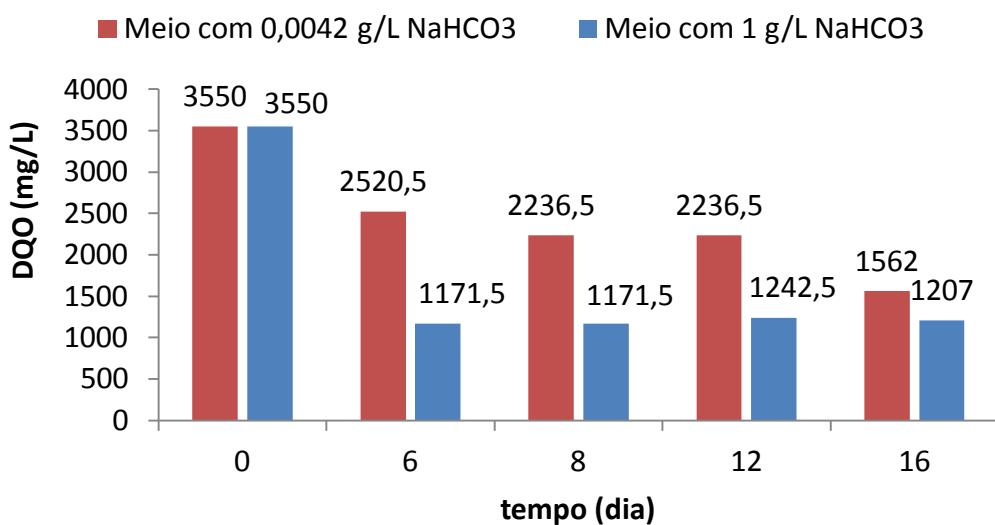
Tabela 4.14 - Resultados da remoções de biodiesel em função do tempo de processo e seus desvios para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio

Tempo (dias)	Remoções de biodiesel (%)	
	Meio com 0,0042 g/L NaHCO ₃	Meio com 1,0 g/L NaHCO ₃
6	30,0 \pm 2,4	69,7 \pm 1,8
8	38,5 \pm 1,8	69,7 \pm 1,5
13	38,5 \pm 1,5	68,9 \pm 2,0
16	58,0 \pm 3,0	69,0 \pm 1,5

Em relação às remoções de DQO e de biodiesel (Figuras 4.23 e 4.24 e Tabelas 4.13 e 4.14) para a condição empregando 0,3 gHCO₃⁻/gDQO (1 g/L de NaHCO₃), os maiores valores obtidos foram no 6º dia de processo, mantendo-se constante no 8º dia com ligeira queda no 13º dia, mantendo-se constante até o 16º dia. Neste período de 16 dias verificou-se que a remoção empregando 0,0012 gHCO₃⁻/gDQO (0,0042 g/L) apresentou valor máximo e próximo à condição empregando 0,3 gHCO₃⁻/gDQO (1 g/L de NaHCO₃) mas o aumento de remoções verificadas ao longo do tempo, foram menores e mais lentas. O comportamento da concentração de DQO ao longo do tempo pode ser verificado na Fig. 4.25. Vale salientar, que para a relação de 0,3 gHCO₃⁻/gDQO (1 g/L de NaHCO₃) o melhor tempo de processo foi de 6 dias devido aos maiores valores de remoções de DQO e de biodiesel obtidos, 67 e 69,7%,

respectivamente. Com isso, mostra que o tempo de adaptação do lodo C2 pode ser reduzida para 6 dias ao invés de 16 dias de processo.

Figura 4.25 - Comportamento da concentração de DQO em função do tempo de processo para diferentes concentrações de bicarbonato de sódio



Além disso, outro ponto importante a ser mencionado é no que se refere à condição empregando $0,0012 \text{ gHCO}_3^-/\text{gDQO}$ ($0,0042 \text{ g/L}$), para esta mesma condição, na etapa de adaptação foram verificados maiores valores de remoções de DQO e de biodiesel quando empregada a renovação do meio de cultivo + biodiesel. Isto sugere, que o acúmulo de metabólitos gerados no meio sem renovação do meio de cultivo + biodiesel afetou a capacidade da cultura em biodegradar o contaminante e como consequência menores valores de remoções foram verificadas.

4.1.5.4 Avaliação da suplementação do meio de cultivo, relação alimento/microrganismo (A/M) e concentração de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) no processo de biodegradação empregando lodo (C2)

Nesta etapa do processo realizaram-se estudos exploratórios em relação a: - suplementação do meio com micronutrientes- cloreto de cobalto, sulfato ferroso 2 e cloreto de níquel (M4) por serem relatados na literatura como componentes importantes para o desenvolvimento do metabolismo anaeróbio; - relação A/M (DQO/SSV) de 0,10, 0,20 e 0,40 a fim de avaliar este efeito na eficiência de remoções de DQO e de biodiesel e na geração de metano; - diferentes concentrações de NaHCO_3 (0,0042, 1 e 1,4 g/L) empregando inclusive

uma concentração deste neutralizante superior ao empregado no item 4.1.5.3 (visando manter a estabilidade do pH dentro da faixa ideal para favorecer a geração de metano). As condições de operação de cada experimento são apresentadas na Tabela 4.14.

Tabela 4.15 - Cronograma dos experimentos

Experimentos	Suplementação ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$, $Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$, $NiCl_2 \cdot 6H_2O$)	Relação A/M	Concentração de $NaHCO_3$ (g/L)	Relação ($gHCO_3^-/gDQO$)
Exp.1	Sim	0,2	0,0042	0,0012
Exp.2	Sim	0,1	1,4	0,4
Exp.3	Sim	0,1	0,0042	0,0012
Exp.4	Sim	0,2	1	0,3
Exp.5	Sim	0,4	1	0,3

As Figuras 4.26 a 4.28 mostram os resultados de remoção de DQO, de concentração de DQO e de remoção de biodiesel para cada experimento durante 16 dias de processo.

As Tabelas 4.16 a 4.17 apresentam os resultados de remoções de DQO e de biodiesel, ambos com seus desvios, para os diferentes experimentos.

Figura 4.26 - Comportamento da remoção de DQO em função do tempo de processo para os diferentes experimentos

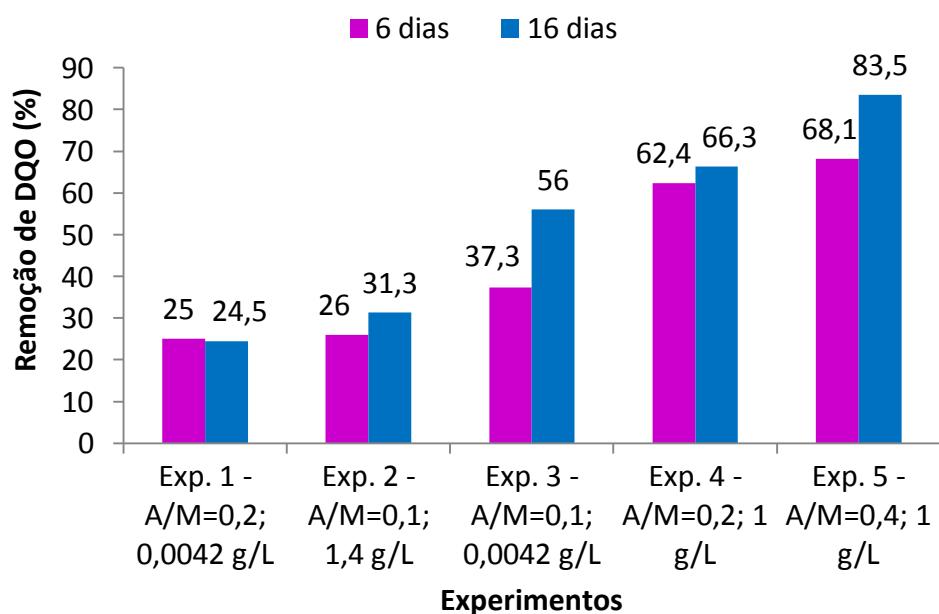


Tabela 4.16 - Resultados de remoções de DQO em função do tempo de processo e seus desvios para os diferentes experimentos.

Tempo (dias)	Remoções de DQO (%)				
	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5
6	25,0 ± 2,4	26,0 ± 1,8	37,3 ± 1,2	62,4 ± 1,0	68,1 ± 0,9
16	24,5 ± 1,8	31,3 ± 1,5	56,0 ± 1,5	66,3 ± 1,8	83,5 ± 1,2

Figura 4.27 - Comportamento da concentração de DQO para os diferentes experimentos

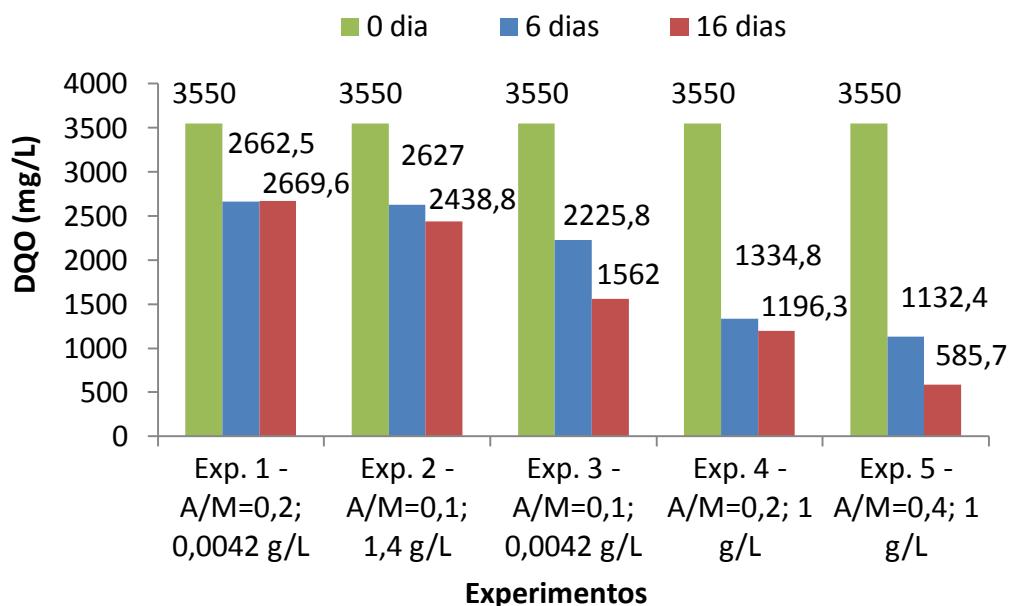


Figura 4.28 - Comportamento da remoção de Biodiesel em função do tempo de processo para os diferentes experimentos

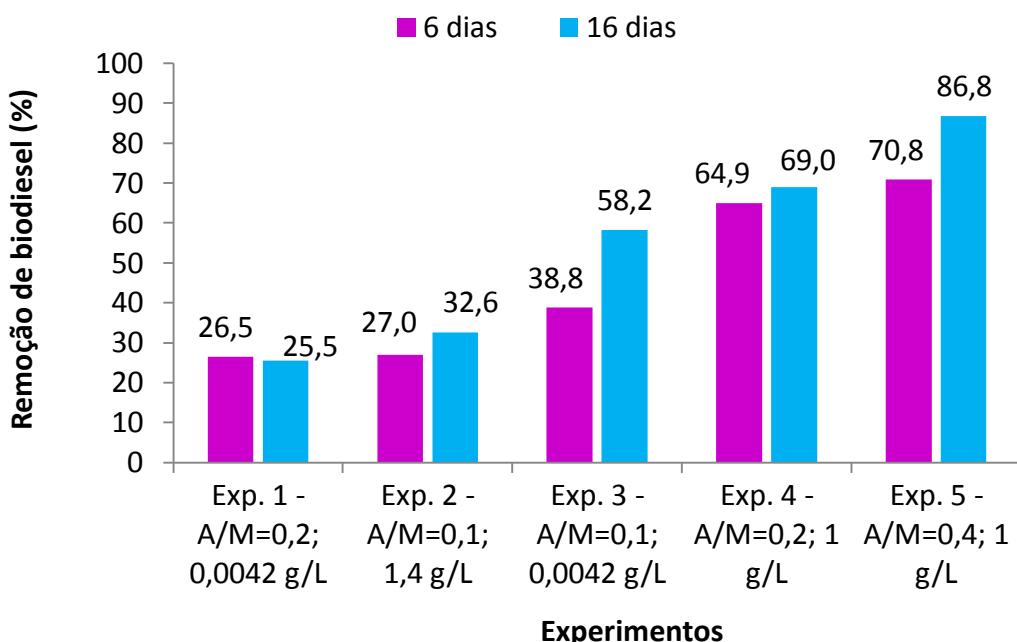


Tabela 4.17 - Resultados de remoções de biodiesel em função do tempo de processo para os diferentes experimentos

Tempo (dias)	Remoções de Biodiesel (%)				
	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5
6	26,5 ± 1,8	27,0 ± 1,0	38,8 ± 2,5	64,9 ± 3,0	70,8 ± 2,6
16	25,5 ± 2,4	32,5 ± 2,0	58,2 ± 1,6	68,9 ± 1,4	86,8 ± 1,8

Vale salientar, que para as condições de operação referentes ao experimento 3 (relação alimento/microrganismo=0,1; 0,0012 gHCO₃⁻/gDQO ou 0,0042 g/L de NaHCO₃ e suplementação de micronutrientes - níquel, cobalto e ferro), verificou-se que a suplementação foi indiferente para a melhoria do processo em termos de remoções de DQO e de biodiesel (56 e 58,2%, respectivamente) quando comparado aos resultados obtidos no item 4.1.5.2 (adaptação do lodo biológico a 5 g/L de biodiesel apresentou remoções de DQO igual a 79,6% e de biodiesel igual a 82,2%), ao empregar as mesmas condições, porém sem suplementação (Fig. 4.16 e 4.18) de micronutrientes.

Em relação aos experimentos 1 (Meio M4 suplementado com micronutrientes + A/M=0,2 + 0,0042 g/L de NaHCO₃) e 4 (Meio M4 suplementado com micronutrientes + A/M=0,2 + 1,0 g/L de NaHCO₃) em que ambos empregaram a relação alimento/microrganismo igual a 0,2, porém com diferente concentrações de bicarbonato de sódio (0,0042 e 1,0 g/L de NaHCO₃), verificou-se pelas Figuras 4.26 e 4.28 que as remoções de DQO e de biodiesel foram maiores para o experimento 4. O experimento 4 apresentou remoções de DQO e de biodiesel acima de 60% em 6 dias (62,4%±1,0 e 64,9%±3,0, respectivamente) e em 16 dias de processo (66,3%±1,8 e 68,9%±1,4 respectivamente). No experimento 1 obteve remoção de DQO igual a 25%±2,4 em 6 dias e 24,5%±1,8 em 16 dias, para a remoção de biodiesel atingiu-se 26,5%±1,8 em 6 dias e 25,5%±2,4 em 16 dias de operação. Ao avaliar estes resultados verificou-se que as condições adotadas para o experimento 1 (Meio M4 suplementado com micronutrientes + A/M=0,2 + 0,0042 g/L de NaHCO₃) não foram favoráveis para as remoções de DQO e de biodiesel, sendo os piores resultados obtidos se comparado com os demais ensaios. Sugere-se que a concentração de bicarbonato de sódio (0,0042 g/L) para o experimento 1 não foi adequado para equilibrar a concentração de ácidos voláteis produzidos com os consumidos afetando as remoções do contaminante.

As condições adotadas para o experimento 2 (Meio M4 suplementado com micronutrientes + A/M=0,1 + 1,4 g/L de NaHCO₃) apresentaram o segundo pior resultado de remoções de DQO e de biodiesel, sendo o valores máximos iguais a 31,3% ± 1,5 e 32,5% ±

2,0, respectivamente, em 16 dias de processo (Figura 4.26 e 4.28) e nenhuma produção de metano detectável (Tabela 4.18).

Tabela 4.18 - Relação de biogás produzido nos diferentes experimentos em 16 dias de processo

Experimentos	Biogás produzido (mmol) - 16 dias	
	CH ₄	CO ₂
Exp.1	0,368	ND
Exp.2	ND	0,286
Exp.3	0,695	1,881
Exp.4	0,720	1,840
Exp.5	0,899	1,308

Isto sugere, que a concentração de 1,4 g/L de tamponante para o experimento 2 não foi favorável para o sistema comparado com o experimento 3, provavelmente houve maior neutralização dos ácidos voláteis do que sua conversão em acetato, H₂ e CO₂ para a produção de biogás.

Ao comparar o experimento 4 com o 5, o ensaio 4 (Meio M4 + A/M=0,2 + 1,0 g/L de NaHCO₃) mesmo com o dobro da quantidade de microrganismos anaeróbio adaptado, as remoções atingiram valores inferiores as do experimento 5 (Meio M4 + A/M=0,4 + 1,0 g/L de NaHCO₃). O experimento 5 (Meio M4 + A/M=0,4 + 1,0 g/L de NaHCO₃) apresentou remoções máximas de DQO e de biodiesel superior a 80% em 16 dias de processo.

Concluiu-se que por meio das Tabelas 4.16 e 4.17 e das Figuras 4.26 e 4.28 que os maiores valores de remoções de DQO e de biodiesel foram nas condições do experimento 5 (Meio M4 suplementado com fontes de níquel, cobalto e ferro, 1,0 g/L de NaHCO₃ e relação alimento/microrganismo de 0,4), apresentando remoções de DQO e de biodiesel iguais a 83,5±1,2 e 86,8%±1,8, respectivamente, assim como a maior produção de metano (Tabela 4.18). Nesta condição foram observados o maior aumento de percentual de concentração de SSV, a faixa de pH para promoção da produção de metano 7,3-6,6 e como consequência a maior quantidade de metano produzido (Tabela 4.18). Devido a estes resultados apresentados pelo experimento 5, as condições das variáveis deste processo foram adotados para as próximas etapas empregando reator UASB. Queiroz et al (2016) em seu estudo do potencial de produção de biogás a partir do tratamento anaeróbio de água residuária gerada na produção de biodiesel avaliaram 4 relações A/M (0,25, 0,31, 0,32 e 0,40) para tratar efluente com carga de DQO variando de 800 a 1000 mgO₂/L e obtiveram como melhor relação 0,25 promovendo remoções de DQO superiores a 90% para uma concentração inicial de DQO de 800 mg/L.

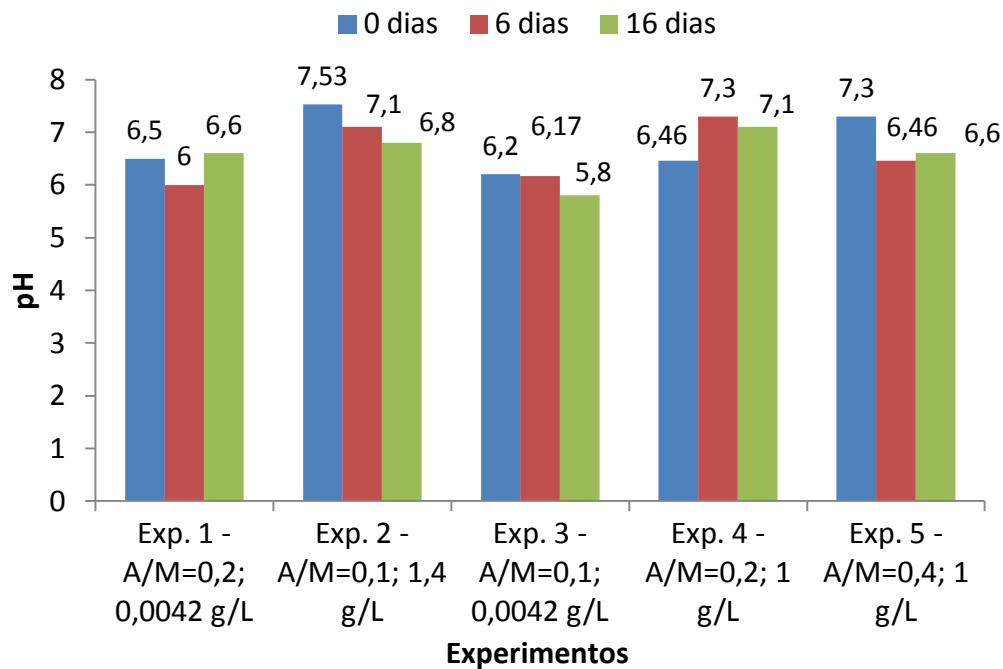
No trabalho de Aquino et al (2007), sobre metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios relataram que para lodo de esgoto sanitário com concentrações iniciais de 5,2 a 10 gSSV/L as melhores relações de alimento/microrganismo são na faixa de 0,3 a 0,5 gDQO/gSSV, com concentração de lodo igual a 2,5 gSSV/L a faixa A/M foi 0,8 a 1,8 gDQO/gSSV e para substrato a base de uma mistura de ácidos graxos voláteis a melhor relação foi de 0,25 gDQO/gSSV. Porém é ressaltada neste trabalho, a necessidade de avaliar a melhor relação alimento/microrganismo de acordo com o lodo anaeróbio utilizado.

Conforme trabalho de Bertolino, Carvalho e Aquino (2008), foi avaliado a caracterização e biodegradabilidade aeróbia e anaeróbia dos esgotos produzidos em campus universitários de Ouro Preto, para biodegradabilidade anaeróbia foi utilizado a relação 0,225 gDQO/g SSV e apresentou remoção de 50%, sendo a DQO inicial de 90 mg e final de 45 mg. Em relação à biodegradação aeróbia utilizaram-se as relações 0,3; 0,5; 1,0 e 3,5. As DQOs iniciais e finais foram 500 e 147 mg/L, 525 e 233 mg/L, 470 e 75 mg/L, 1250 e 228 mg/L, respectivamente. Para todas as relações para o processo aeróbio apresentou remoção de 90%, mas a relação A/M igual a 0,5 foi destacada como a melhor. O pH do meio variou de 7,35 a 8,23 em que foi empregado NaHCO₃ e apresentou alcalinidade em mg/L de 149 a 241.

A seguir, a Figura 4.29 ilustra o comportamento do pH para os diferentes experimentos ao longo do processo anaeróbio de 16 dias.

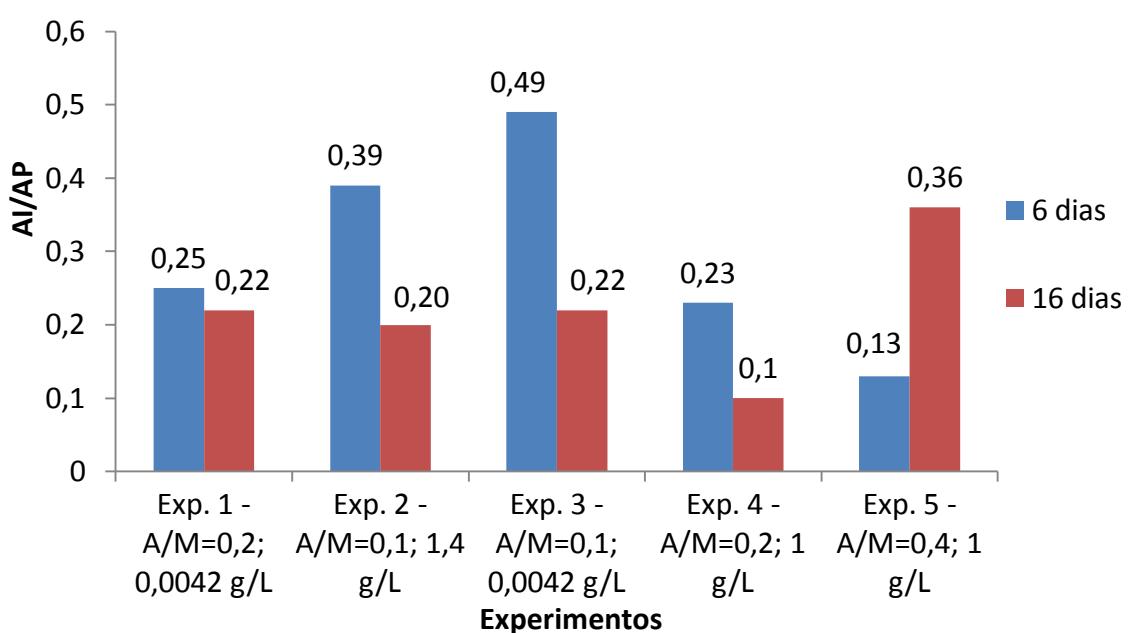
Ao analisar o comportamento do pH ao longo do processo verifica-se pela Figura 4.29, que a variação do pH ficou na faixa de 6,0 a 8,0, exceto para o experimento 3 que variou em torno de 5,0 a 6,0, sendo uma faixa bastante favorável para a fase acidogênica.

Figura 4.29 - Comportamento do pH em função do tempo de processo para os diferentes experimentos



A Figura 4.30 ilustra o comportamento da alcalinidade intermediária por alcalinidade parcial (AI/AP) ao longo do processo anaeróbio para cada experimento.

Figura 4.30 - Comportamento da relação AI/AP em função do tempo para os diferentes experimentos



Observou-se na Figura 4.30, que no experimento 3 a relação alcalinidade de ácidos voláteis por alcalinidade de bicarbonato foram superiores a 0,3 no sexto dia de processo sendo restabelecido no 16º dia atingindo valor igual 0,22.

Os demais experimentos apresentaram relação alcalinidade de ácidos voláteis por alcalinidade de bicarbonato inferior ou próximo a 0,3, o que pode ser favorável para os sistemas (Figura 4.30).

No trabalho de Alexis et al. (2015) foi estudado o efeito da relação alimento/microrganismo sobre o potencial bioquímico de metano de biorresíduos de origem municipal. Neste trabalho os experimentos foram realizados em reatores de 250 mL, por 40 dias, a 30 °C, utilizou 7 relações de alimento/microrganismo que variou de 0,25 a 9,0, foi adicionado solução de micro e macronutrientes e 4% de NaHCO_3 como agente tamponante. Foi verificado a variação do pH na faixa de 5,54 - 7,23 e a DQO inicial foi de 137839,06 mg/L e atingiu DQO final de 35604,49 mg/L. Em relação a produção de metano a relação A/M=9,0 não apresentou aumento significativo e justificou que quanto maior a relação A/M, menor é a quantidade de microrganismos disponíveis para transformação dos produtos fermentativos, com isso o acúmulo de ácidos orgânicos voláteis e o favorecimento da fase hidrolítica gerando compostos orgânicos provocando o aumento de matéria orgânica no meio e consequentemente baixa degradação. Houve maior produção de metano e biodegradação para valores inferior a 0,6. Em relação à concentração de 4% de bicarbonato de sódio empregada apresentou boa neutralização para as relações entre 0,25 a 2 e para valores de A/M entre 4 e 9, tal concentração de bicarbonato de sódio foi insuficiente para a neutralização dos ácidos voláteis, provocando o acúmulo desses ácidos no sistema e o desequilíbrio do processo anaeróbio e assim verificou a necessidade de complementação do neutralizante.

A produção de metano, no trabalho de Alexis et al. (2015), variou de 176,9 a 17,56 mL CH_4 /gSSV. Diante disso, os autores concluíram que para valores baixos de pH, de alcalinidade de bicarbonato e altas concentrações de ácidos voláteis indicam a necessidade da adição de neutralizante no substrato. Assim, a suplementação por macro e micronutrientes, o controle do pH e da relação alimento/microrganismo permite menores tempo de retenção, estabilidade durante o processo anaeróbio e bons desempenho do sistema.

A Figura 4.31 e a Tabela 4.19 apresentam o comportamento das concentrações de SSV durante o processo anaeróbio para cada experimento.

Figura 4.31 - Comportamento da concentração SSV em função do tempo de processo para os diferentes experimentos

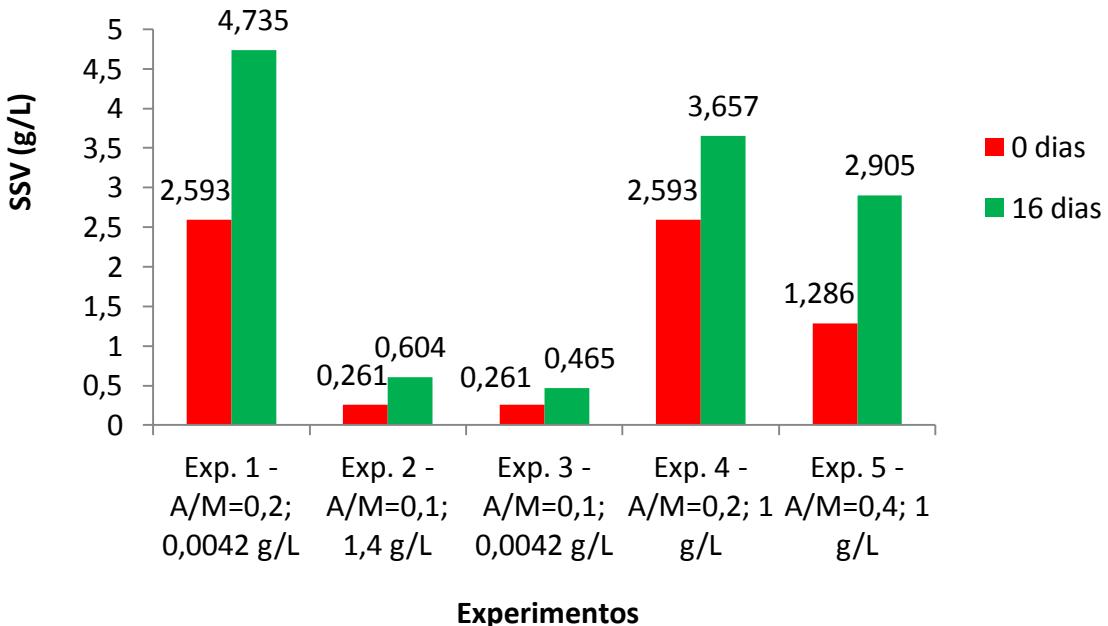


Tabela 4.19 - Resultados de concentração SSV em função do tempo de processo para os diferentes experimentos

Tempo (dias)	SSV (g/L)				
	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5
0	2,593 \pm 0,34	0,261 \pm 0,25	0,261 \pm 0,15	2,593 \pm 0,10	1,286 \pm 0,15
16	4,735 \pm 0,28	0,604 \pm 0,18	0,465 \pm 0,25	3,657 \pm 0,18	2,905 \pm 0,95

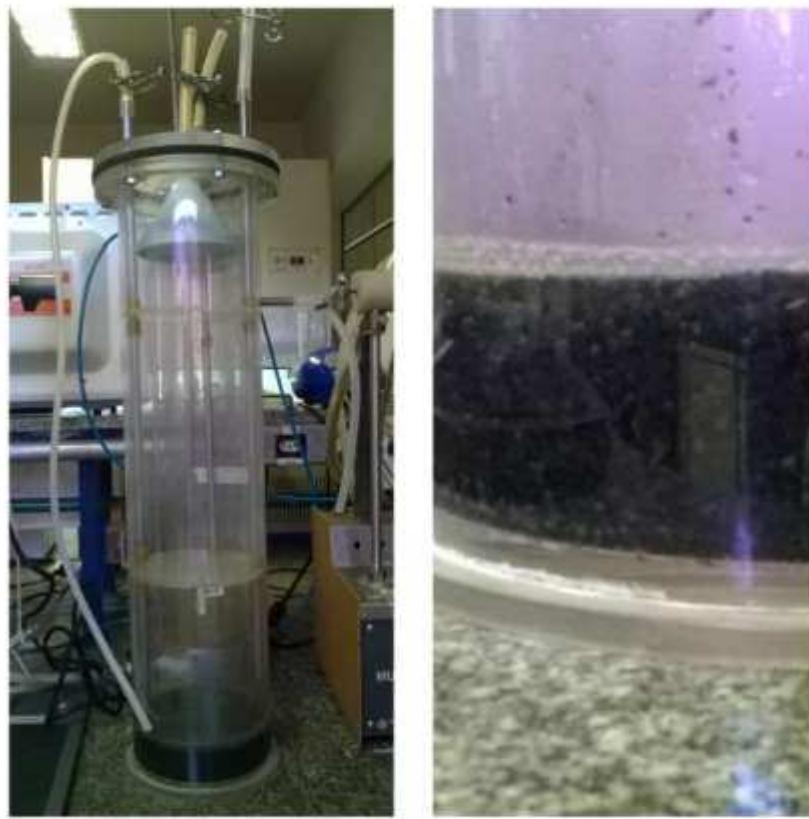
Em relação aos resultados de SSV observou-se por meio da Figura 4.31, que houve crescimento celular em 16 dias para todas as condições experimentais avaliadas. Vale salientar, que o experimento 5 começou com uma maior relação A/M de 0,4 e apresentou um dos maiores percentuais de crescimento quando comparado a relação A/M de 0,2 com segundo maior percentual inicial de SSV. Este comportamento reforça e justifica as maiores remoções de DQO e de biodiesel obtidas, a maior produção de metano produzido e maior estabilidade da relação AI/AP nas condições do experimento 5 (Meio M4 + A/M=0,4 + 1,0 g/L de NaHCO₃).

4.1.5.5 Inoculação e partida do reator UASB

A inoculação e a partida do reator foram conduzidas de forma vagarosa para evitar problemas operacionais como a perda de biomassa e a queda nas remoções do contaminante em estudo.

A Figura 4.32 ilustra a inoculação do reator vazio e o aspecto do lodo após 24 horas.

Figura 4.32 - Inoculação do reator vazio e adaptação do lodo C2 a condição ambiente



Inoculação do reator UASB vazio

Lodo após 24 horas de adaptação

O lodo anaeróbio C2 utilizado apresentou-se na forma de grânulos, de cor preta e com boas características de sedimentabilidade. Após inoculação do reator vazio, vedou todas as entradas e saídas do mesmo para evitar o contato com ar ambiente.

O percentual de lodo anaeróbio no interior do reator foi de 7%, sendo 0,558 litros de lodo adaptado e decantado para 8,2 litros de volume útil do reator. Esta relação foi estabelecida com base nos melhores resultados obtidos no Item 4.1.5.4 empregando reatores cônicos de bancada.

A Figura 4.33, apresenta o início da alimentação no reator até metade de seu volume útil.

Figura 4.33 - Primeira etapa de alimentação do reator UASB



Início da alimentação do efluente no reator com auxílio de uma bomba e de um agitador digital.

Alimentação interrompida e metade do volume útil do reator UASB preenchido (4,1 litros) e mantido em repouso por 96 horas.

Após a alimentação do reator até a metade de seu volume útil foi analisada amostra de sobrenadante após 96 horas, sendo os resultados mostrados na Tabela 4.20.

Tabela 4.20 - Partida do reator UASB

Parâmetros	Resultados após 96 horas
DQO inicial (mg/L)	3550
DQO final (mg/L)	449,92
pH inicial	7,66
pH final	6,82
Temperatura (°C)	26
Remoção de biodiesel (%)	68,79 ± 1,4
Remoção de DQO (%)	87,33 ± 2,0

Pelos resultados apresentados na Tabela 4.20, a adaptação do lodo anaeróbio C2 estava dentro do esperado, pois as remoções de DQO e de biodiesel foram de 87,33% e 68,79%, respectivamente, e o pH manteve próximo a neutralidade.

A Figura 4.34 ilustra o início da segunda etapa de alimentação a fim de completar todo o volume útil do reator.

Figura 4.34 - Segunda etapa de alimentação do reator



Após repouso de 96 horas, iniciou o preenchimento de todo o volume útil do reator.

Reator com volume útil (8,2 litros) preenchido e mantido em repouso por 7 dias para adaptação.

Durante a adaptação gradativa do lodo com efluente sintético, observou-se a presença de grumos de cor branca e a formação de bolhas indicando adaptação dos microrganismos ao substrato.

Nessa segunda etapa de preenchimento de todo volume útil do reator novamente fez coleta de amostra de sobrenadante após 7 dias de adaptação e os resultados obtidos estão na Tabela 4.21.

Tabela 4.21 - Resultados da segunda etapa de preenchimento de todo o volume útil do reator UASB

Parâmetros	Resultados após 7 dias
DQO inicial (mg/L)	3550
DQO final (mg/L)	306,7
pH inicial	7,66
pH final	6,64
Temperatura (°C)	26,8
Remoção de biodiesel (%)	72,00 ± 1,2
Remoção de DQO (%)	91,36±0,8

Conforme Tabela 4.21, observou-se a evolução da etapa de adaptação ao acompanhar a eficiência de remoção de DQO e de biodiesel em 4 dias (com metade do volume útil preenchido com efluente) e em 7 dias com volume útil totalmente preenchido. Em 4 dias de processo de aclimatação obteve remoções de DQO e de biodiesel iguais a $87,33\% \pm 2,0$ e $68,79\% \pm 1,2$, respectivamente. Em 7 dias, as remoções atingiram os valores de $91,36\% \pm 0,8$ e $72\% \pm 1,2$, respectivamente. Nessa etapa o pH, também, manteve próximo a neutralidade.

Vale salientar que nos testes preliminares a 5 g/L de biodiesel, nos quais verificou que o tempo de adaptação do lodo C2 poderia ser reduzido para 6 dias, obteve remoções de DQO e de biodiesel iguais a $61\% \pm 1,6$ e $63,4\% \pm 3,0$, respectivamente. Em 8 dias, as remoções foram de $69,6\% \pm 2,4$ e $72,4\% \pm 1,7$. Isso mostrou que a técnica de adaptação do inóculo adotada no reator UASB foi eficiente e ocasionou o aumento da eficiência de remoção do contaminante.

4.1.5.6 Operação em batelada

As Figuras 4.35, 4.36 e a Tabela 4.22 mostram os resultados de remoções de DQO e de biodiesel e a degradabilidade do contaminante em processo biológico anaeróbio, no reator UASB em operação batelada.

Figura 4.35 - Resultados de remoções de DQO e de biodiesel para o tratamento de efluente contaminado com biodiesel a 5 g/L no reator UASB em operação batelada

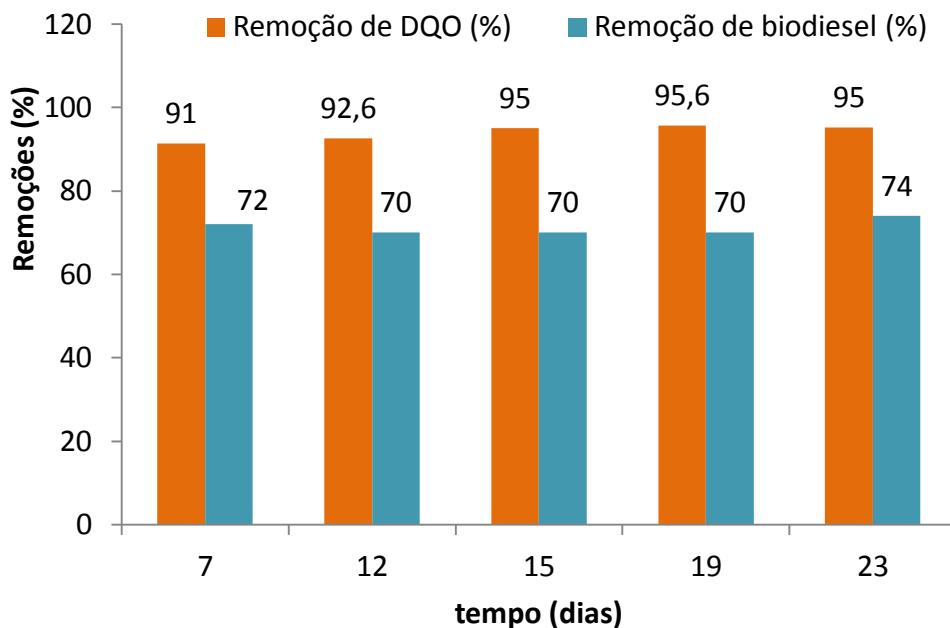


Tabela 4.22 - Resultados de remoções de DQO e de biodiesel e seus desvios, em reator UASB

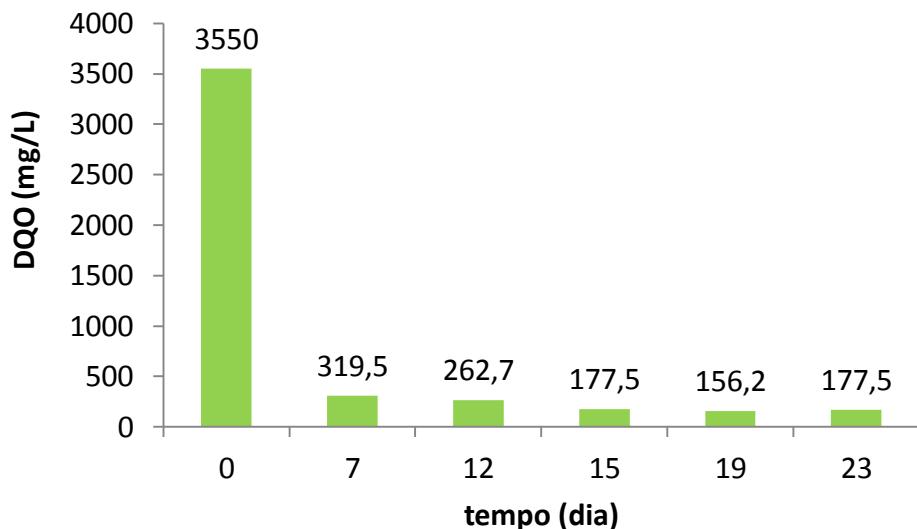
Dia	Remoções (%)	
	DQO	Biodiesel
7	91,0 \pm 0,8	72,0 \pm 1,2
12	92,6 \pm 1,0	70,0 \pm 1,0
15	95,0 \pm 1,4	70,0 \pm 0,8
19	95,6 \pm 0,20	70,0 \pm 0,5
23	95,0 \pm 0,5	74,0 \pm 1,4

De acordo com a Figura 4.35 e Tabela 4.22, observou-se que após adaptação houve aumento gradual da remoção de DQO atingindo um valor máximo em 19 dias de processo com 96% aproximadamente. O baixo aumento do percentual de remoção de biodiesel (4%) observado em 23 dias de processo não justificaria a extensão de dias de processo tendo como referência o melhor tempo de 19 dias.

Ao comparar os resultados obtidos empregando o reator UASB em processo batelada com os obtidos no experimento 5 (Meio M4 + A/M=0,4 + 1,0 g/L de NaHCO₃) do item 4.1.5.4 (remoção de DQO e de biodiesel iguais a 83,5% \pm 1,2 e 86,8% \pm 1,8 em 16 dias de processo em reator cônico de bancada) em mesmas condições operacionais, verificou-se que a remoção de DQO no reator UASB em operação batelada atingiu valores acima do esperado, em detrimento a remoção de biodiesel que diminuiu em percentual de 17%. Mesmo apresentando essa diminuição percentual de remoção de biodiesel o processo em reator UASB

em processo batelada mostrou-se satisfatório, uma vez que este trabalhou com um volume de meio no reator UASB 41vezes maior (200 mL de meio no reator cônico de bancada x 8200 mL de meio no reator UASB).

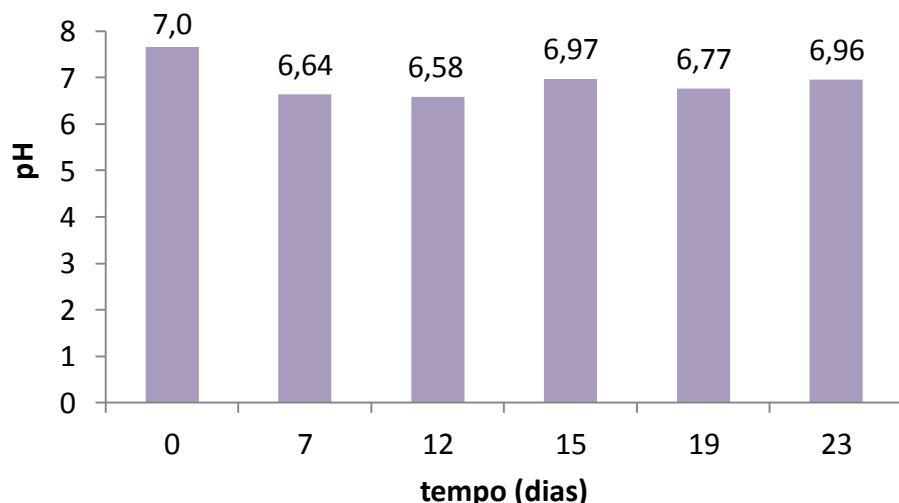
Figura 4.36 - Efeito da degradabilidade do efluente



Na Figura 4.36 observou-se a queda da DQO ao longo do tempo comprovando a eficiência da remoção de DQO. Vale salientar que a DQO inicial foi de 3550 mg/L e atingiu 177,5 mg/L em 23 dias de processo, sendo $95\% \pm 0,5$ de remoção de DQO. O tempo de residência foi de 3 dias para uma vazão de alimentação de 0,108 L/h.

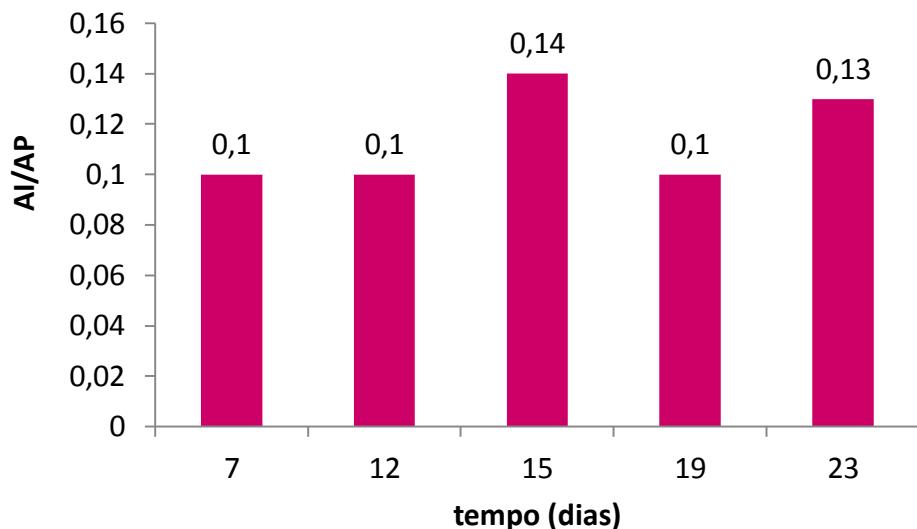
A seguir, a Figura 4.37 ilustra o comportamento do pH ao longo do processo biológico com lodo C2, em reator UASB batelada.

Figura 4.37 - Comportamento do pH ao longo do processo no reator UASB



Com a correção do pH e o tamponamento do meio de cultivo com bicarbonato de sódio a 1 g/L, observou-se a estabilidade do pH próximo da neutralidade durante o processo de tratamento biológico do efluente assim como nos testes preliminares. O pH variou na faixa de 6,58 a 7,0, como mostra a Figura 4.37. A Figura 4.38 apresenta o comportamento da relação de ácidos voláteis por alcalinidade de bicarbonato em função do tempo.

Figura 4.38 - Relação AI/AP ao longo do processo, em reator UASB



Pela Figura 4.38 observou-se que a relação de ácidos voláteis por alcalinidade de bicarbonato manteve-se praticamente constante no decorrer do processo em reator batelada. Atingiu-se valor de 0,1 aproximadamente em todos os dias de análise, sendo um valor inferior a 0,3 indicando o equilíbrio na formação e no consumo dos ácidos orgânicos voláteis para a formação de acetato, H₂ e CO₂ e por fim a produção de metano. Tal equilíbrio mostra que a utilização e a determinação da melhor concentração de bicarbonato de sódio (agente tamponante) foram importantes para a neutralização do meio e manutenção da estabilidade da relação AI/AP.

A temperatura média ambiente durante os 23 dias de processo foi de 27 ± 0,5 °C, mostrando que o reator operou dentro da faixa mesofílica sendo essa faixa indicada para a ação dos microrganismos produtores de metano e a garantia do bom desempenho dos mesmos. Sendo descartada a necessidade do uso energético para controle da temperatura do sistema em estudo diante da máxima remoção de DQO (96% aproximadamente).

A vazão de biogás produzido durante o processo foi quantificado pelo milligáscounter acoplado à saída do separador trifásico e apresentou média de produção de

$6,14 \pm 1,5$ mL/h. A máxima produção de metano quantificada por meio de cromatografia gasosa foi obtida em 16 dias de processo. A relação produzida foi de 0,57 mmol de CH₄ e 0,250 mmol de CO₂.

Vale salientar que, para obter maior remoção de biodiesel e produção de metano, mais estudos devem ser realizados para verificar o efeito de outras variáveis importantes para o processo anaeróbio, visando posteriormente tratar efluente in natura contaminado com biodiesel.

5 Resumo dos resultados obtidos para cada experimento

5.1 EXPERIMENTOS COM CULTURA C1

Adaptação da cultura C1 ao biodiesel empregando aeração intermitente		
Objetivo: Verificar a adaptação da cultura C1 ao biodiesel sob aeração intermitente		
Remoção de DQO (%)		74,4
Tempo (dias)		14
DQO inicial (mg/L)		39990
DQO final (mg/L)		10397,4
pH inicial		6,8
pH final		6,8
C (g/L) inicial		0,75
C (g/L) final		1,025
Avaliação do comportamento de biodegradação com o tempo empregando aeração intermitente		
Objetivo: Avaliar a biodegradação em 28 dias com a cultura C1		
Remoção de DQO (%)	14 dias - 71,7	28 dias - 70%
Tempo (dias)		28
DQO inicial (mg/L)		39990
DQO final (mg/L)	14 dias - 11317,17	28 dias - 11997
pH inicial		6,805
pH final	14 dias - 6,84	28 dias - 6,6
C (g/L) inicial		0,65
C (g/L) final	14 dias - 1,1	28 dias - 1,08
Preparo do inóculo sob condições anaeróbias		
Objetivo: Avaliar a capacidade da cultura C1 em degradar o biodiesel sob condição anaeróbia com inóculo (C1) adaptado por aeração intermitente e em 28 dias		
Remoção de DQO (%)	7 dias - 80,4	28 dias - 51
Remoção de biodiesel (%)	7 dias - 83,6	28 dias - 54
DQO inicial (mg/L)		3550
DQO final (mg/L)	7 dias - 6967	28 dias - 16030
pH inicial		6,6

pH final	7 dias - 7,6		28 dias - 7,5					
SSV (mg/L) inicial	522,5							
SSV (mg/L) final	7 dias - 780		28 dias - 765					
Experimentos em condições anaeróbias: avaliação do efeito do tipo de processo de obtenção do inóculo na biodegradação do biodiesel								
Objetivo: Avaliar a possível capacidade da cultura C1 em biodegradar biodiesel sob condições anaeróbias utilizando C1 adaptada em condições anaeróbia e por aeração intermitente em 28 dias de processo								
	Inóculo anaeróbio		Inóculo por aeração intermitente					
Remoção de biodiesel (%)	14 dias - 85,7	28 dias- 85,1	14 dias - 86,9	28 dias - 86,4				
DQO inicial (mg/L)	3550							
DQO final (mg/L)	14 dias - 2179,7		14 dias - 1956					
pH inicial	6,76							
pH final	14 dias - 6,75	28 dias - 7,5	14 dias - 6,76	28 dias - 6,66				
SSV (mg/L) inicial	140		638					
SSV (mg/L) final	14 dias - 200	28 dias - 200	14 dias - 742,5	28 dias - 857,5				
AI/AP	> 0,3							

5.2 EXPERIMENTOS COM LODO ANAERÓBIO C2

Caracterização do lodo C2	
Parâmetros	Valores
Sedimentabilidade (mL/L)	700
IVL (mL/g)	11,4
Sólidos Suspensos Totais (mg/L)	72.065,0
Sólidos Suspensos Voláteis (mg/L)	54.742,5
Sólidos Suspensos Fixos (mg/L)	17.322,5

Adaptação do lodo biológico C2			
Objetivo: Adaptar o lodo C2 ao biodiesel e verificar a máxima carga de contaminante			
Remoção de Biodiesel (%)			
Tempo (dias)	Empregando 2,5 g/L de Biodiesel	Empregando 5,0 g/L de Biodiesel	Empregando 7,5 g/L de Biodiesel
6	79,3 ± 1,5	63,4 ± 3,0	42,2 ± 1,8
12	83,4 ± 1,8	76,3 ± 1,4	61,0 ± 3,0
16	89,4 ± 3,0	82,2 ± 2,6	88,6 ± 1,5
Remoção de DQO (%)			
Tempo (dias)	Empregando 2,5 g/L de Biodiesel	Empregando 5,0 g/L de Biodiesel	Empregando 7,5 g/L de Biodiesel
6	76,3 ± 2,4	61,0 ± 1,6	40,6 ± 3,0
12	80,2 ± 1,0	73,4 ± 1,5	59,0 ± 2,0
16	86,0 ± 2,0	79,0 ± 3,0	85,0 ± 1,6
DQO (mg/L)			
Tempo (dias)	Empregando 2,5 g/L de biodiesel	Empregando 5 g/L de biodiesel	Empregando 7,5 g/L de biodiesel
0	3550	3550	3550
6	841,35	1384,5	2108,7
12	702,9	944,3	1455,5
16	497	745,5	532,5

SSV (g/L)			
Tempo (dias)	Empregando 2,5 g/L de Biodiesel	Empregando 5,0 g/L de Biodiesel	Empregando 7,5 g/L de Biodiesel
0	1,306 ± 0,25	2,540 ± 0,55	2,515 ± 0,28
16	2,540 ± 0,40	4,495 ± 0,35	4,910 ± 0,44
pH			
Tempo (dias)	2,5 g/L de biodiesel	5,0 g/L de biodiesel	7,5 g/L de biodiesel
0	6,55	6,55	6,55
16	4,25	4,75	5,41

Experimento de biodegradação do biodiesel a 5 g/L empregando C2 adaptado e diferentes concentrações de bicarbonato de sódio

Objetivo: Verificar o efeito da suplementação com bicarbonato de sódio na biodegradação e na geração de metano.

pH		
dia	5 g/L e 0,0042 g/L	5 g/L e 1g/l
0	6,34	6,5
16	3,26	7,01
Concentração de SSV (g/L)		
dia	5 g/L e 0,0042 g/L	5 g/L e 1g/l
0	$2,515 \pm 0,28$	$2,515 \pm 0,32$
16	$4,410 \pm 0,25$	$5,460 \pm 0,20$
Remoção de biodiesel (%)		
dia	5 g/L e 0,0042 g/L	5 g/L e 1g/l
6	$30,0 \pm 2,4$	$69,7 \pm 1,8$
8	$38,5 \pm 1,8$	$69,7 \pm 1,5$
13	$38,5 \pm 1,5$	$68,9 \pm 2,0$
16	$58,0 \pm 3,0$	$69,0 \pm 1,5$
Remoção de DQO (%)		
dia	5 g/L e 0,0042 g/L	5 g/L e 1g/l
6	$29,0 \pm 1,6$	$67,0 \pm 3,0$
8	$37,0 \pm 2,0$	$67,0 \pm 1,4$
13	$37,0 \pm 1,0$	$65,0 \pm 1,5$
16	$56,0 \pm 2,5$	$66,0 \pm 1,6$

Avaliação da suplementação do meio de cultivo, relação alimento/microrganismo (A/M) e concentração de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) no processo de biodegradação empregando lodo (C2)

Objetivo: A avaliar a suplementação do meio, a relação A/M, diferentes concentrações de NaHCO_3 por meio da eficiência das remoções de DQO e de biodiesel juntamente com a produção de metano.

Remoção de DQO (%)					
Tempo (dias)	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5
6	$25,0 \pm 2,4$	$26,0 \pm 1,8$	$37,3 \pm 1,2$	$62,4 \pm 1,0$	$68,1 \pm 0,9$
16	$24,5 \pm 1,8$	$31,3 \pm 1,5$	$56,0 \pm 1,5$	$66,3 \pm 1,8$	$83,5 \pm 1,2$

Remoção de biodiesel (%)					
Tempo (dias)	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5
6	26,5 ± 1,8	27,0 ± 1,0	38,8 ± 2,5	64,9 ± 3,0	70,8 ± 2,6
16	25,5 ± 2,4	32,5 ± 2,0	58,2 ± 1,6	68,9 ± 1,4	86,8 ± 1,8
DQO (mg/L)					
Tempo (dias)	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5
0	3550	3550	3550	3550	3550
6	2662,5	2627	2225,8	1334,8	1132,4
16	2669,6	2438,8	1562	1196,3	585,7
pH					
Tempo (dias)	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5
0	6,5	7,53	6,2	6,46	7,3
6	6	7,1	6,17	7,3	6,46
16	6,6	6,8	5,8	7,1	6,6
AI/AP					
Tempo (dias)	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5
6	0,25	0,39	0,49	0,23	0,13
16	0,22	0,2	0,22	0,1	0,36

SSV (g/L)					
Tempo (dias)	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5
0	2,593 ± 0,34	0,261 ± 0,25	0,261 ± 0,15	2,593 ± 0,10	1,286 ± 0,15
16	4,735 ± 0,28	0,604 ± 0,18	0,465 ± 0,25	3,657 ± 0,18	2,905 ± 0,95

Biogás produzido (mmol) - 16 dias		
Experimentos	CH₄	CO₂
Exp.1	0,368	ND
Exp.2	ND	0,286
Exp.3	0,695	1,881
Exp.4	0,720	1,840
Exp.5	0,899	1,308

5.3 EXPERIMENTO COM REATOR UASB E LODO C2

Inoculação e partida do reator	
Primeira etapa: preenchimento da metade do volume útil do reator	
Parâmetros	Resultados após 96 horas
DQO inicial (mg/L)	3550
DQO final (mg/L)	449,92
pH inicial	7,66
pH final	6,82
Temperatura (°C)	26
Remoção de biodiesel (%)	68,79
Remoção de DQO (%)	87,33
Segunda etapa: preenchimento de todo o volume útil do reator	
Parâmetros	Resultados após 96 horas
DQO inicial (mg/L)	3550
DQO final (mg/L)	449,92
pH inicial	7,66
pH final	6,82
Temperatura (°C)	26
Remoção de biodiesel (%)	68,79
Remoção de DQO (%)	87,33

Operação em batelada com volume útil todo preenchido		
Remoções (%)		
Tempo (dia)	DQO	Biodiesel
7	91,0 ± 0,8	72,0 ± 1,2
12	92,6 ± 1,0	70,0 ± 1,0
15	95,0 ± 1,4	70,0 ± 0,8
19	95,6 ± 0,2	70,0 ± 0,5
23	95,0 ± 0,5	74,0 ± 1,4

Operação em batelada com volume útil todo preenchido	
pH	
Tempo (dia)	pH
0	7,00
7	6,64
12	6,58
15	6,97
19	6,77
23	6,96
AI/AP	
Tempo (dia)	AI/AP
7	0,1
12	0,1
15	0,14
19	0,1
23	0,13
DQO (mg/L)	
Tempo (dia)	DQO
0	3550
7	319,5
12	262,70
15	177,5
19	156,20
23	177,5

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho apresentou as seguintes conclusões:

- a cultura mista C1 e o lodo anaeróbio C2 foram capazes de adaptar ao efluente sintético contaminado com biodiesel;
- o processo anaeróbio de tratamento do efluente empregando a cultura mista independente do processo de preparo do inóculo não afetou o processo de biodegradação comprovando que a cultura C1 é realmente facultativa;
- pelos experimentos com diferentes concentrações de bicarbonato de sódio como agente tamponante, observou-se que a sua utilização como neutralizante é essencial para o controle do pH do sistema, sendo o pH o fator principal na digestão anaeróbia;
- a substituição da cultura mista C1 pelo lodo anaeróbio C2 foi necessária devido aos resultados não favoráveis obtidos durante os testes preliminares com o intuito de otimizar a biodegradação utilizando a cultura mista C1;
- o lodo C2 de cor preta e granular apresentou boas características de sedimentabilidade nos experimentos realizados;
- a melhor concentração do neutralizante, bicarbonato de sódio, no efluente sintético tratado foi de 1 g/L devido aos melhores resultados de remoções de biodiesel e de DQO, além de contribuir para o maior crescimento microbiano analisado por meio de sólidos suspensos voláteis e a atendendo a faixa de pH dos microrganismos produtores de metano de 6,0 a 8,0;
- a concentração máxima de biodiesel que pode ser tratada pela cultura mista C1 foi de 50 g/L e para o lodo anaeróbio C2 foi de 5 g/L de biodiesel. Nos testes preliminares verificou que o lodo C2 foi capaz de degradar o biodiesel até 7,5 g/L de biodiesel, porém em alguns momentos verificou a dificuldade de sedimentação dos microrganismos. Diante disso, determinou-se que efluente sintético contaminado a 5 g/L de biodiesel seria a máxima concentração;
- a técnica de troca de meio a cada dois dias otimizou o preparo de adaptação do lodo C2 reduzindo seu tempo de processo de 6 a 7 dias ao invés de 16 dias, devido a remoção de metabólitos que pode ser tóxico para a cultura;

- O tempo de adaptação da cultura mista C1 a 50 g/L de biodiesel necessitava de 14 dias de processo, devido as dificuldades na degradação apresentadas no decorrer da pesquisa e a não produção de metano e consequentemente a troca do tipo de cultura. Com isso não realizou-se a técnica de troca de meio a fim de verificar a possível redução do tempo de adaptação ou operação da cultura C1;
- o experimento 5 apresentou as melhores condições de operação devido os maiores valores de remoções de DQO e de biodiesel (83,5 e 86,8%, respectivamente), utilizando o meio M4 suplementado com micronutrientes (Fe, Co e Ni), concentração de NaHCO_3 de 1 g/L, relação 0,3 g de bicarbonato por 1 g de DQO ($\text{gHCO}_3^-/\text{gDQO}$) e relação alimento/microrganismo de 0,4. Nestas condições, também, foram observados o segundo maior aumento de percentual de concentração de SSV, a faixa de pH para promoção da produção de metano foi de 7,3-6,6 e como consequência a maior quantidade de metano produzido (0,899 mmol);
- As relações de ácidos voláteis por alcalinidade de bicarbonato, que permitiram equilíbrio na formação e no consumo de ácidos voláteis no sistema e consequentemente maiores remoções de contaminante, foram inferiores a 0,3;
- A operação em batelada no reator UASB com meio M4 suplementado com micronutrientes (Fe, Co e Ni) + A/M=0,4 + 1,0 g/L de NaHCO_3 + 7% de inóculo para 8,2 litros de volume útil do fermentador + TRH= 3 dias apresentou resultados satisfatórios. A adaptação do inóculo no reator UASB por 7 dias atingiu remoções de DQO e de biodiesel iguais a $91\% \pm 0,8$ e $72\% \pm 1,2$, respectivamente. Em 23 dias de processo obteve remoções iguais a $95\% \pm 0,5$ e $74\% \pm 1,4$, respectivamente. A variação do pH ocorreu próximo a neutralidade (7,0 - 6,58) indicando que a quantidade de agente tamponante (1 g/L) foi eficiente para o sistema, tanto que a relação de ácido voláteis por alcalinidade parcial variou de 0,1 a 0,14 sendo um valor inferior a 0,3, indicando que o sistema ficou em equilíbrio durante todo o tratamento biológico. A temperatura do sistema manteve dentro da faixa mesofílica variando de $27 \pm 0,5$ °C e quantidade máxima de metano detectado foi de 0,573 mmol em 16 dias de processo para uma vazão de biogás obtida de 6,14 mL/h.

7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Para os futuros trabalhos sugere:

- a) avaliar o meio de cultivo utilizado com intuito de reduzir o número de sais inorgânicos e reduzir custo;
- b) avaliar as condições operacionais do experimento 5 (Meio M4 + A/M=0,4 + 1,0 g/L de NaHCO₃ sob condição anaeróbia e com lodo anaeróbio) em efluente sintético contaminado por biodiesel em reator UASB em regime contínuo;
- c) avaliar as condições operacionais do experimento 5 (Meio M4 + A/M=0,4 + 1,0 g/L de NaHCO₃ sob condição anaeróbia e com lodo anaeróbio) em efluente não sintético contaminado por biodiesel em reator UASB em regime batelada e contínuo;
- d) verificar a possibilidade de adicionar um surfactante para facilitar a homogeneização do biodiesel ao meio de cultivo (efluente sintético ou não sintético) e avaliar o tratamento biológico em reator UASB em regime contínuo e em batelada.

8 REFERÊNCIAS

- ALEXIS, Parra-orobio Brayan et al. Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal. **Ingeniería, Investigación y Tecnología**, [s.l.], v. 16, n. 4, p.515-526, out. 2015. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.riit.2015.09.004>
- ANDRADE, Juliano de Almeida. **Otimização da reação de fenton visando aplicações na remediação in-situ e ex-situ de águas subterrâneas**. 2005. 232f. Dissertação (Mestrado em Química)- Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- ANDRADE, Juliano de Almeida; AUGUSTO, Fábio; JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Rev. Eclética Química**, São Paulo, vol.35, n. 3, p. 17-43, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-46702010000300002>
- ANDREOLI, Cleverson V.; VON SPERLING, Marcos; FERNANDES, Fernando. **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**, 1 ed, vol. 6, Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e ambiental - UFMG, Companhia de Saneamento do Paraná, 484p., 2001.
- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th ed. APHA: Washington, 1998.
- AQUINO, Sérgio F. et al. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Eng. Sanit. Ambient.** [online], v. 12, n. 2, 197-201, 2007. ISSN 1413-4152. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522007000200010> <https://doi.org/10.1590/S1413-41522007000200010>
- ATADASHI, I.m. et al. High quality biodiesel obtained through membrane technology. **Journal Of Membrane Science**, [s.l.], v. 421-422, p.154-164, dez. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.memsci.2012.07.006>
- ARAUJO, Débora Justini. **Utilização de um reator híbrido no tratamento anaeróbio do efluente de uma indústria de produtos de limpeza**. 2002. 143 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2002.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Nº 12209: Elaboração de projetos hidráulicos-sanitários de estações de tratamento de esgotos sanitários. Rio de Janeiro: Abnt, 2011. 60 p. Disponível em: <<http://www.mpf.mp.br/atuacao-tematica/CCR4/documentos-e-publicacoes/outrossites/122092011Elaboraodeprojetoshidrulicosanitriosdeestaesdetratamentoodeesgotossanitrios.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2017.

Barrera, S. Fundamentos Del tratamiento anaeróbico. In: Seminario sobre Tecnología de Tratamiento anaerobio de residuos orgánicos. Bogotá-Colombia: Universidad de los Andes. 1993.

BEDOR, P. B. A. et al. Avaliação da suplementação de macro e micronutrientes no tratamento de efluente da produção de biodiesel. **Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, Florianópolis - SC, v. 1, n. 2, p.1-8, fev. 2015. Editora Edgard Blücher. <http://dx.doi.org/10.5151/chemeng-cobeq2014-1857-17192-153176> <https://doi.org/10.5151/chemeng-cobeq2014-1857-17192-153176>

BERTOLINE, Sueli M.; CARVALHO, Cornélio F.; AQUINO, Sérgio F. Caracterização e biodegradabilidade aeróbia e anaeróbia dos esgotos produzidos em campus universitário. **Eng. Sanit. Ambient.**, v. 13, n.3, p.271-277, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522008000300005>

BRANDÃO, Camilo Aurélio. **Remoção de cromo (vi) e carbono orgânico total em biorreatores híbridos sequenciais**. 2013. 132f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

BRASIL. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Biocombustíveis. Rio de Janeiro, 2015. 4p.

BRASIL. Agência Nacional do petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Biodiesel - introdução. Rio de Janeiro, 2014. 3p.

BRASIL. Lei no 13263, de 23 de março de 2016. Para dispor sobre os percentuais de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no território nacional. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 mar. 2016. Disponível em:< <http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=1&data=24/03/2016>. Acesso em: 30 jun. 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Água. Brasília, 2016. 5p.

CAMPOS, Cláudio Milton Montenegro et al. Desenvolvimento e operação de reator anaeróbico de manta de lodo (UASB) no tratamento dos efluentes da suinocultura em escala laboratorial. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 30, n.1, p.140-147, jan./fev.2006.

CARLOS-HERNÁNDEZ, Salvador et al. Análisis de um proceso de tratamiento de efluentes para producción de metano. 11. ed., **Revista Iberoamericana de Automática e Informática industrial**, Elsevier Espanha. p. 236-246, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.riai.2014.02.006>

CASSINI, Sérvio Túlio. **Digestão de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento do biogás**. 1 ed. vol. 1. Rio de Janeiro: ABES, RiMa. 210 p. 2003.

CHAVALPARIT, Orathai; ONGWANDEE, Maneerat. Optimizing electrocoagulation process for the treatment of biodiesel wastewater using response surface methodology.

Journal Of Environmental Sciences, [s.l.], v. 21, n. 11, p.1491-1496, jan. 2009. Elsevier BV. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62445-6](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62445-6)

CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos. **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios: aspectos metodológicos**. 1 ed. Belo Horizonte: Segrac. 2001.

CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos. **Reatores anaeróbios**. 1 ed. vol. 5. Belo Horizonte: Segrac. 246 p. 1997.

CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos. **Reatores anaeróbios**. 2 ed. vol. 5. Belo Horizonte: Segrac. 380 p.2007.

Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. **NTS 013: Norma Técnica Interna SABESP: NTS 013 - Sólidos**. São Paulo: Sabesp, 1999. 8 p. Disponível em: <<http://www2.sabesp.com.br/normas/nts/nts013.pdf>>. Acesso em: 18 dez. 2017.

DAUD, Nurull Muna et al. Production of biodiesel and its wastewater treatment technologies: A review. **Process Safety And Environmental Protection**, [s.l.], v. 94, p.487-508, mar. 2015. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2014.10.009>

De Mello, J. A. et al. Biodegradation and environmental behaviour of biodiesel mixtures in the sea: An initial study. **Marine Pollution Bulletin**. v. 54, p. 894-904, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.02.016>

DÖLL, Maria Magdalena Ribas; FORESTI, Eugênio. Efeito do bicarbonato de sódio no tratamento de vinhaça em AnSBBR operado a 55 e 35°C. **Eng. Sanit. Ambient**. v. 15, n. 3, 275-282,2010. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522010000300011>

FACCINI, Candice Schmitt. **Uso de adsorventes na purificação de biodiesel de óleo de soja**. 2008. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

FUCHS, Angela Maria Silva. **Guia de normalização de publicações técnico-científicas**. Uberlândia: UDUFU, 2013. 286 p.

GOMES, Ana Paula Nogareti. **Biodegradação de biodiesel soja, mamona, hidrocarbonetos monoaromáticos em ambientes aquáticos**. 2008. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008. Disponível em: <http://rema.ufsc.br/wp-content/uploads/2014/10/2008_dissertação_ana_paula_nogareti_gomes.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2017.

GRIFFIN, Matt E. et al. Methanogenic population dynamics during start-up of anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 57,n. 3,p.342-355, 1998.

GUIMARÃES, Syntia Gabriele Moura de Oliveira; BRITO NETO, Francisco Agustinho de; GALVÃO, Luzia Patrícia Fernandes de Carvalho. Tratamento do efluente gerado na produção de biodiesel utilizando os processos oxidativos avançados-foto-fenton - em luz artifical. In: Congresso Nacional de Engenharia de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 1, 2015, Campina Grande. **Anais Conepetro**, Campina Grande: Realize, 2015. Disponível em: <http://www.editorarealize.com.br/revistas/conepetro/trabalhos/Moduladade_4datahora_30_03_2015_21_45_30_idinscrito_1722_293cea4ceb7dc24cbf0b949f6b039015.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2017.

HAANDEL, Adrianus C. van; LETTINGA, Gatze. **Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate**. Chichester - Inglaterra: WILEY, 226p., 1994.

JORDÃO, Eduardo Pacheco; PESSÔA, Constatino Arruda. **Tratamento de esgotos domésticos**. ABES: Rio de Janeiro, 2014. 1050 p.

KUMJADPAI, Sasipan et al. Management of fatty acid methyl ester (fame) wastewater by a combined two stage chemical recovery and coagulation process. **The Canadian Journal Of Chemical Engineering**, [s.l.], v. 89, n. 2, p.369-376, 21 mar. 2011. Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/cjce.20429>

KUSS, Vivian Vicentini et al. Potential of biodiesel production from palm oil at Brasilian Amazon. **Jounal Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 50, p.1013-1020, 2015. <https://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.05.055>

LEMOS, Diego. A. **Tratamento biológico de solo contaminado por biodiesel bruto**. 2013. 106 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

LIMA, Urgel de Almeida et al. **Biotecnologia industrial: Processos fermentativos e enzimáticos**. 1 ed. vol. 3. São Paulo: Blucher. 2001. 593 p.

MANZONI, Leandro Penedo; BARROS, Talita Delgrossi. **Biodiesel**. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Brasília, 2015. 1p.

MARTINS, Simone Duarte. **Comparação do desempenho de duas configurações de reatores UASB no tratamento do soro de queijo em dois estágios**. 2000. 120f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2000.

MENESES, Janaina Moreira de. Tratamento do efluente do biodiesel utilizando eletrocoagulação/flotação: investigação dos parâmetros operacionais. **Química Nova**, vol. 35, n.2, p.235-240, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000200002>

Milazzo, M. F et al. Sustainable soy biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 27, 806-852, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.07.031>

MOREIRA, Felipe S. et al. Improvement of hydrogen production by biological route using repeated batch cycles. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 58, p.60-68, jul. 2017. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.04.013>

MORITA, Tokio. ASSUMPCÃO, Rosely Maria Viegas. **Manual de soluções, reagentes e solventes**: Padronização, preparação, purificação, indicadores de segurança e descarte de produtos. 2. Ed. São Paulo: BLUCHER. 2007.

NGAMLERDPOKIN, Krit et al. Remediation of biodiesel wastewater by chemical- and electro-coagulation: A comparative study. **Journal Of Environmental Management**, [s.l.], v.92,n.10,p.2454-2460,out.2011. ElsevierBV. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.05.006>

OLIVEIRA, Danilla Marques. **Biodegradação de biodiesel de origem animal**. 2008.64 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Instituto de Biociências, Rio Claro, 2008.

OLIVEIRA, Fernando C. de; COELHO, Suan T. History, evolution, and environmental impact of biodiesel in Brazil: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2017, 75, 168-179. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.10.060>

PALOMINO-ROMERO, Joel A. et al. Tratamentos dos efluentes gerados na produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 35, n. 2, p. 367-378, 2012.

PASQUALINO, J; MONTANÉ, D; SALVADÓ, J. Synergic effects of biodiesel in the biodegradability of fossil-derived fuels. **Biomass And Bioenergy**, [s.l.], v. 30, n. 10, p.874-879, out. 2006. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2006.03.002>

PATEL, Alok et AL. Biological treatment of pulp and paper industry effluent by oleaginous yeast integrated with production of biodiesel as sustainable transportation fuel. **Journal of Cleaner Production**, 2017, 142, 2858 - 2864. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.10.184>

PITAKPOOLSIL, Wipawan; HUNSON, Mali. Adsorption of pollutants from biodiesel wastewater using chitosan flakes. **Journal Of The Taiwan Institute Of Chemical Engineers**, [s.l.], v. 44, n. 6, p.963-971, nov. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtice.2013.02.009>.

PINTO, Fernanda Vieira. Boletim mensal do biodiesel, Agência Nacional de petróleo, Gás Natural e Combustíveis (ANP). 2017.

QUEIROZ, L. M.; NASCIMENTO, I. O. C.; KALID, R. A. Potencial de produção de biogás a partir do tratamento anaeróbio de água residuária gerada na produção de biodiesel. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 21, 2016, Fortaleza. **Anais do XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ**, 2016. Fortaleza: Blucher, 2016.

RAMINHO, Marcela Loureiro Fanni. **Utilização de tratamento físico e biológico conjugados na remediação de solo contaminado por biodiesel em reatores de diferentes escalas**. 2015. 107f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.

RIVALDI, Juan Daniel et al. Biotechnological Utilization of Biodiesel-Derived Glycerol for the Production of Ribonucleotides and Microbial Biomass. **Applied Biochemistry And Biotechnology**, [s.l.], v. 167, n. 7, p.2054-2067, 1 jun. 2012. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-012-9749-x>.

RODRIGUES, Luciano dos Santos et al. Avaliação de reator anaeróbio de manta de lodo no tratamento de efluente frigorífico. **B. Industr. Anim.**, v. 71, n. 4, p. 365-370, 2014. <http://dx.doi.org/10.17523/bia.v71n4p365>

COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO. **NTS 013**: Norma Técnica Interna SABESP: NTS 013 - Sólidos. São Paulo: Sabesp, 1999. 8 p. Disponível em: <<http://www2.sabesp.com.br/normas/nts/nts013.pdf>>. Acesso em: 18 dez. 2017.

SANT'ANNA JUNIOR, Geraldo Lippel. **Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações**. 2 ed. Rio de Janeiro: Interciênciac. 2013.

SCHMIDELL, Willibaldo et al. **Biotecnologia industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Blücher, 2001. 560 p.

SCHULTZ, Fabíola Medeiros. **Avaliação de microrganismos com potencial de degradação de diesel e biodiesel**. 2010. 137 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

SELMA, et al. ASBR applied to the treatment of biodiesel production effluent: effect of organic load and fill time on performance and methane production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 162, 2365 - 2380, 2010. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9009-x>

SRIRANGSAN, A.; CHAVALPARIT, O. Treatment of Biodiesel Wastewater by Electrocoagulation Process, **Environment Asia**, v. 2, p. 15-19, 2009. <https://doi.org/10.14456/ea.2009.11>

SUEHARA, Ken-ichiro et al. Biological treatment of wastewater discharged from biodiesel fuel production plant with alkali-catalyzed transesterification. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, [s.l.], v. 100, n. 4, p.437-442, out. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1263/jbb.100.437>.

TORRES LOZADA, P. et al. Evaluación de diferentes alacalinizantes em El tratamiento anaeróbio de águas residuales facilmente acidificables. In: Taller Y Simposio Latinoamericano Sobre Digestion Anaerobia, 8, 2005, Punta del Este. **Anais Taller Y Simposio Latinoamericano Sobre Digestion Anaerobia**, Punta del Este: IWA.571-575, 2005.

VIEIRA, P. A. et al. Biodegradation of diesel oil and gasoline contaminated effluent employing intermittent aeration. **Journ. Hazard. Mat.**, 2009. 168, 1366-1372. <https://doi.org/10.1016/j.hazmat.2009.03.023>

VIEIRA, P. A. et al. Biodegradation of effluent contaminated with diesel fuel and gasoline. **Journ. Hazard. Mat.**, 2007. 140 (1-2), 52-59. <https://doi.org/10.1016/j.hazmat.2006.06.048>

VIEIRA, P. A. et al. Sedimentation of mixed cultures using natural coagulants for the treatment of effluents generated in terrestrial fuel distribution terminals. **Journ. Hazard. Mat.**, 2012. 231-232, 98-104. <https://doi.org/10.1016/j.hazmat.2012.06.043>

VIEIRA, P.A. **Biotratamento de efluente contaminado por hidrocarbonetos de petróleo.** Uberlândia: UFU, 2008. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

VIEIRA, T. M. et al. Determinação e quantificação da degradação bacteriana e biodiesel de óleo de palma. In: I Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, 2006, Brasília. **Anais...** Brasília, 2006, p. 1-6.

VON SPERLING, Marcos. **Lodos ativados.** 2. ed. Belo Horizonte: UFMG. 428 p. 1997.

WU, Shuyun et al. Anaerobic biodegradation of soybean biodiesel and diesel blends under methanogenic conditions. **Water Research**, v. 87, n. -, p.395-402, dez. 2015.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.09.024>

ZHANG, Baohua et al. Enzyme immobilization for biodiesel production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.93, n.1, p.61-70, 2012.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-011-3672-x>

ŽIVKOVIĆ et al. Technological, technical, economic, environmental, social, human health risk, toxicological and policy considerations of biodiesel production and use. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2017, 79, 222-247. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.048>

ANEXO A - DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO

Para quantificar a quantidade de oxigênio necessário para oxidar a matéria orgânica e inorgânica oxidável de um efluente industrial ou doméstico é necessário preparar as soluções:

1. Solução de Digestão - alta concentração:

Pesou 15,0773g de $K_2Cr_2O_7$ (Dicromato de potássio) manteve na estufa por 2hs a 150°C, deixou o dicromato de potássio esfriar em dessecador, após esfriar, pesou 10,1264g de dicromato de potássio seco e diluiu em 500 mL de água destilada em balão volumétrico de 1000 mL, adicionou vagarosamente pela parede do balão volumétrico 167 mL de ácido sulfúrico concentrado e em seguida 33,3003 g de $HgSO_4$ e completou o volume do balão com água destilada (Figura A.1). O procedimento foi realizado na capela e armazenou em frasco escuro ou fosco em temperatura ambiente.

Figura A.1 - Solução de digestão de alta concentração



2. Solução de ácido sulfúrico:

Pesou 10,11g de Ag_2SO_4 , cristais ou pó, e adicionou em 1L de H_2SO_4 concentrado ainda lacrado (novo) e deixou repousar por 2 dias (o repouso pode variar de 1 a 2 dias) para ocorrer a mistura. A solução foi armazenada no próprio frasco de ácido sulfúrico concentrado e mantido em geladeira. Observação: Para 1 L de ácido sulfúrico concentrado usar 10,11g de Ag_2SO_4 (densidade do $H_2SO_4=1,8356g/cm^3=1,8356Kg/L$).

3. Solução de Biftalato de Potássio (BK) (Ftalato Ácido de Potássio/ $HOOCC_6H_4COOK$) - para a montagem da curva linear de calibração padrão:

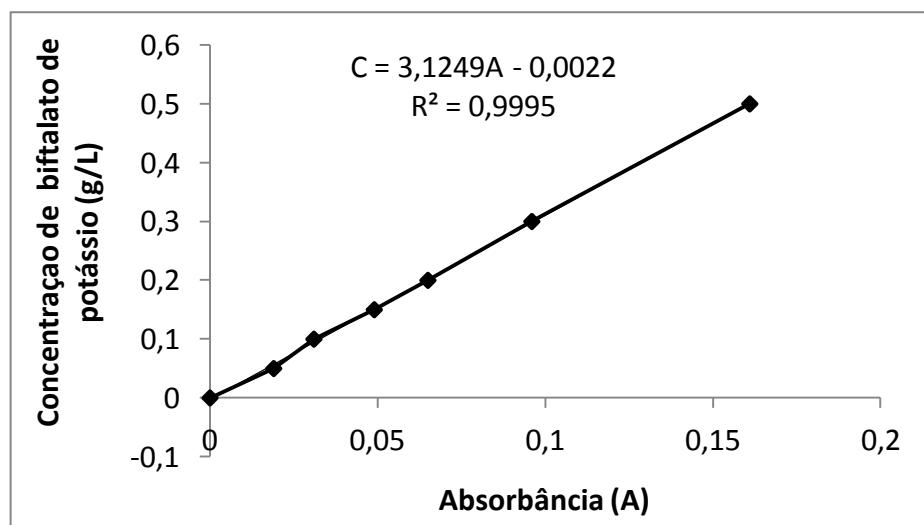
Pesou 1,5054 g de biftalato de potássio esmagou levemente e deixou secar na estufa por 24hs a 110°C. Após 24hs, preparou 6 soluções de biftalato de potássio nas concentrações 0,425g/L, 0,255g/L, 0,170g/L, 0,1275g/L, 0,0855g/L e 0,0425 g/L. As soluções foram mantidas em frascos na geladeira por manter estável enquanto refrigeradas, mas não indefinidamente e a cada 7 dias foram refeitas. Estas soluções são somente para a montagem da curva de calibração.

Valores referências de carbono orgânico total (COT) teórico de cada solução de biftalato de potássio e suas absorbâncias são apresentados na Tabela A.1. A curva de calibração é ilustrada na Figura A.2.

Tabela A.1 - Valores referências de carbono orgânico total (COT) de cada solução de biftalato de potássio e suas respectivas absorbâncias em 600 nm para construção da curva de calibração

Solução de biftalato de potássio	COT	Absorbâncias (600 nm)
0	0 µgO ₂ (somente reagente + água destilada)	0,000
0,425 g/L	500 µgO ₂ /mL=500 mgO ₂ /L	0,161
0,255g/L	300 µgO ₂ /mL= 300 mgO ₂ /L	0,096
0,170 g/L	200 µgO ₂ /mL=200 mgO ₂ /L	0,065
0,1275 g/L	150 µgO ₂ /mL= 150 mgO ₂ /L	0,049
0,0855 g/L	100 µgO ₂ /mL=100 mgO ₂ /L	0,031
0,0425 g/L	50 µgO ₂ /mL=50 mgO ₂ /L	0,019

Figura A.2 - Curva de calibração



4. Amostra de sobrenadante em estudo:

O sobrenadante deve ser diluído em balão volumétrico em proporção de acordo com o tipo de efluente em estudo.

Após o preparo das soluções, foram separados tubos de vidro de 10 mL com tampa. Esses tubos foram lavados com água e sabão e ambientados com água destilada, em seguida foram adicionadas as soluções da seguinte forma, em triplicata:

- I. Solução em branco ou zero: 2,5 mL de água destilada + 1,5 mL de solução de digestão de alta concentração (dicromato) + 3,5 mL de solução de ácido sulfúrico com sulfato de prata. Tampou com veda-rosca e depois rosqueou a tampa em cada tubo. Esta amostra serve para calibrar e zerar o espectrofotômetro antes de analisar as amostras.
- II. Para cada sobrenadante diluído coletou 2,5mL e transferiu para 1 tubo de 10ml (fez isso em triplicata - 3 tubos para cada balão com amostra diluída), adicionou 1,5 mL de solução de digestão de alta concentração + 3,5 mL de ácido sulfúrico com sulfato de prata (item b) em cada tubo. Tampou com veda-rosca e depois rosqueou a tampa em cada tubo.
- III. Para a curva de calibração preparou os 18 tubos com as soluções de biftalato de potássio da seguinte maneira:
 - Em três tubos de 10 mL, adicionou 2,5 mL de solução a 0,425g/L + 1,5 mL de solução de digestão de alta concentração + 3,5 mL de solução de ácido sulfúrico para cada tubo e reservou.
 - Em três tubos de 10 mL, adicionou 2,5 mL de solução a 0,085g/L + 1,5 mL de solução de digestão de alta concentração + 3,5 mL de solução de ácido sulfúrico para cada tubo e reservou.
 - Em três tubos de 10 mL, adicionou 2,5 mL de solução a 0,0425 g/L + 1,5 mL de solução de digestão de alta concentração + 3,5 mL de solução de ácido sulfúrico para cada tubo e reservou.
 - Em três tubos de 10 mL, adicionou 2,5 mL de solução a 0,1275g/L + 1,5 mL de solução de digestão de alta concentração + 3,5 mL de solução de ácido sulfúrico para cada tubo e reservou.
 - Em três tubos de 10 mL, adicionou 2,5 mL de solução a 0,170g/L + 1,5 mL de solução de digestão de alta concentração + 3,5 mL de solução de ácido sulfúrico para cada tubo e reservou.

-Em três tubos de 10 mL, adicionou 2,5 mL de solução a 0,255g/L + 1,5 mL de solução de digestão de alta concentração + 3,5 mL de solução de ácido sulfúrico para cada tubo e reservou. Tampou cada tubo com veda-rosca por 3x e colocou a tampa.

Generalizando, sempre quando for analisar no espectrofotômetro deve ter a curva de calibração, preparar a solução em branco e a solução da amostra em estudo da seguinte forma: (2,5 mL do branco ou 2,5 mL da amostra em estudo ou 2,5 mL de solução para a montagem da curva) + 1,5 mL de solução de digestão + 3,5 mL de solução de ácido sulfúrico com sulfato de prata.

Deixou o digestor ligado por 30 minutos até atingir a temperatura de 150° C, girou cada tubo 1x da posição de 90° até a posição 180° e retornou a posição de 90° vagarosamente ou até sua homogeneização e colocou no digestor por duas horas na capela e com exaustor ligado. Após duas horas retirou os tubos com cuidado e colocou no suporte de tubos e deixou esfriar em ambiente escuro e na temperatura ambiente por 1 hora (Figura A.3).

Figura A.3 - Amostras no digestor e após digestão para análise de DQO



Após resfriar, retirou as tampas e o veda-rosca e fez leitura no espectrofotômetro a 600nm. Obtendo as absorbâncias, e conhecendo as concentrações das soluções de biftalato de potássio construiu a curva no Excel e obteve equação linear. Com a curva de calibração ($[C(A)] =$ concentração em função da absorbância) obtida e os valores de absorbâncias das

amostras sobrenadantes coletadas e analisadas pôde determinar a concentração de cada amostra em termos de DQO (Equação 1).

$$C = (3,1249A - 0,0022) * d * 1000 \quad (1)$$

Na qual,

C é a concentração em mg/L em termos de DQO;

A é a absorbância

d é o fator de diluição da amostra

Após digerir, as amostras podem apresentar a cor amarela, verde ou azul. A cor verde ou azul indica que sua amostra está concentrada e precisa ser mais diluída, mas isso dependerá de cada amostra e do objetivo em estudo.

ANEXO B - DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SUSPENSOS TOTAIS, FIXOS E VOLÁTEIS

Para a determinação de sólidos suspensos voláteis (SSV), Equação 4, fez a secagem da cápsula de porcelana vazia por 30 minutos a 550°C na mufla, após secagem deixou a mesma secar no dessecador de sílica gel, aferiu seu peso (P1) e manteve no dessecador até o momento de utilizá-la. 40 mL ou 20 mL de amostra coletada foram centrifugadas por 1x por 20 minutos e retirou com espátula o inóculo (precipitado) formado no fundo do tubo da centrífuga e colocou na cápsula previamente seca, e deixou na estufa por 24 horas a 105°C. Após 24 horas, retirou da estufa e esfriou dentro do dessecador, aferiu sua massa (P2) e colocou na mufla (calcinação) por 30 minutos a 550°C, transferiu para o dessecador, deixou esfriar e aferiu sua massa (P3). Para quantificação de células foram feitos os seguintes cálculos:

$$\text{Sólidos totais (SST)} \quad \frac{P2 - P1}{va} \quad (2)$$

$$\text{Sólidos fixos (SSF)} \quad \frac{P3 - P1}{va} \quad (3)$$

$$\text{SSV} \quad ST - SF \quad (4)$$

Nas quais,

$P2$ é a massa da cápsula com inoculo após 24horas na estufa a 105° C;

$P1$ é a massa da cápsula vazia e seca a 550° C por 30 minutos;

va é o volume da amostra sobrenadante (40 mL ou 20 mL)

ANEXO C - ÍNDICE VOLUMÉTRICO DE LODO

Homogeneizou a amostra de lodo e adicionou 1 litro em uma proveta de vidro com capacidade de 2 litros e aguardou 30 minutos. Após 30 minutos faz leitura do lodo sedimentado e calcula o IVL. Sendo o quociente do volume de lodo decantado em mL e o volume total da amostra utilizada (no caso 1000 mL) como mostra a Equação 5.

$$IVL = \frac{\text{volume de lodo decantado após 30 minutos}}{\text{volume total da amostra antes dos 30 minutos}} \quad (5)$$

ANEXO D - TEOR DE ÁCIDEZ E ALCALINIDADE POR TITULAÇÃO

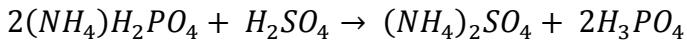
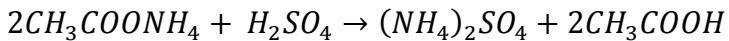
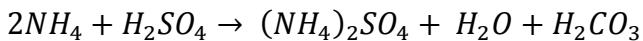
Calibrou o pHmetro com solução tampão de pH 4,0 e 7,0.

Com proveta coletou 25 mL de sobrenadante (amostra centrifugada) e colocou em erlenmeyer de 50 mL de capacidade.

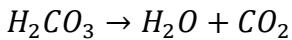
Preparou uma bureta com solução de ácido sulfúrico 0,5N previamente ambientada com a solução.

Com agitação manual ou com agitador magnético fez a titulação até a amostra sobrenadante atingir pH de 4,0. Anotou o pH atingido, o volume gasto de ácido sulfúrico e completou a bureta com o mesmo.

Titulou novamente até atingir pH de 3,5 a 3,3. E anotou o volume de ácido gasto.



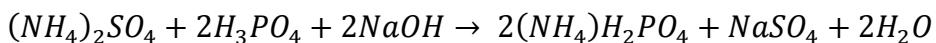
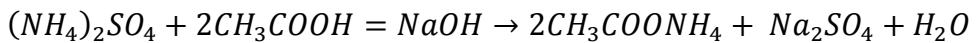
Aqueceu até à ebulação e deixou por 3 minutos a fim de eliminar o gás carbônico. Para isso, utilizou bico de busen e suporte com manta para colocar o erlenmeyer com a amostra titulada para ferver. Esperou esfriar um pouco e depois colocou em banho-maria até temperatura ambiente.



Elevou o pH até 4,0 com hidróxido de sódio a 1 N ou 0,1N (dependerá da amostra).

Preparou outra bureta com hidróxido de sódio 0,1 N previamente ambientada com a mesma solução.

Titulou a amostra já resfriada até atingir pH de 7,0, anotou o volume gasto de hidróxido de sódio. Este volume corresponde a alcalinidade devido aos ácidos voláteis e base fosfato.



Com as titulações realizadas e com os volumes gastos anotados, calculou-se:

a. Alcalinidade total:

$$\frac{mg}{L} NaHCO_3 = \frac{VH_2SO_4}{V_A} * N_{0,5N} * 84000 * f_A$$

$$\frac{mg}{L} CaCO_3 = \frac{VH_2SO_4}{V_A} * N_{0,5N} * 50000 * f_A$$

Alcalinidade de ácidos voláteis (AI):

$$\frac{mg}{L} NaHCO_3 = \frac{VNaOH}{V_A} * N_{0,1N} * 84000 * f_B$$

$$\frac{mg}{L} CaCO_3 = \frac{VNaOH}{V_A} * N_{0,1N} * 50000 * f_B$$

Nas quais,

f_A e f_B são fatores de correção do ácido e da base respectivamente.

V_A é o volume de amostra, no caso 25 mL.

VH_2SO_4 é o volume total gasto (nas duas titulações).

$VNaOH$ é o volume total gasto de NaOH 0,1 N.

$N_{0,5N}$ e $N_{0,1N}$ é a concentração da solução utilizada (0,5 e 0,1).

b. Alcalinidade de bicarbonato (AP):

$$\frac{mg}{L} = \text{alcalinidade total (CaCO}_3) - \text{alcalinidade de ácidos voláteis (CaCO}_3)$$

Teor de ácidos voláteis:

$$\frac{mg}{LHAc} = \text{alcalinidade de ácidos voláteis} * 1,0 \quad (\text{Para alcalinidade de ácidos voláteis} \leq 180 \text{mg/L}).$$

$\frac{mg}{LHAc}$ = alcalinidade de ácidos voláteis * 1,5 (Para alcalinidade de ácidos voláteis $\geq 180\text{mg/L}$).

Para verificação de distúrbio ou não no processo deve calcular a relação acidez volátil e alcalinidade bicarbonato (AI/AP). Esta relação deve apresentar valor $\leq 0,3$ para que o meio esteja em condições favoráveis ao funcionamento do sistema.

ANEXO E - PREPARO DAS SOLUÇÕES E SUAS PADRONIZAÇÕES PARA AS TITULAÇÕES

a) Solução de ácido sulfúrico 0,5 N

Em balão volumétrico de 1 litro adicionou 15 mL de ácido sulfúrico concentrado e completou com água destilada. Relação utilizada $0,1\text{N H}_2\text{SO}_4 = 4,904\text{g}$ de ácido sulfúrico, então 0,5N há 25g de H_2SO_4 . E para cada 1mL de ácido sulfúrico concentrado = 1,70g de ácido sulfúrico, com isso 25g de ácido = 15 ml de ácido sulfúrico concentrado.

b) Padronização da solução de ácido sulfúrico a 0,5N

A padronização da solução de ácido sulfúrico determina o fator de correção (f_A). Com isso, preparou 100 mL de solução de hidróxido de sódio a 0,5 N, ou seja, pesou 2,0005 g de NaOH PA ($\text{g NaOH}=0,5*40,01*0,1=\text{concentração}*\text{massa molecular NaOH}*\text{volume(L)}$) em balão de 100 mL, dissolveu o reagente e completou o balão com água destilada.

Em erlenmeyer de 250 mL adicionou 20 mL da solução de NaOH 0,5N e adicionou 4 gotas de indicador de alaranjado de metila. Preparou uma bureta com ácido sulfúrico 0,5 N e titulou. Anotou o volume de ácido gasto e calculou o fator de correção (MORITA; ASSUMPCÃO, 2007).

Foi feito em duplicata. Os volumes gastos foram de 16,1 e 16,65 mL de ácido sulfúrico 0,5 N.

$$f_A = \frac{Ns * Vs * fc}{NaVa}$$

Na qual,

Ns é a concentração da solução de NaOH (0,5 N).

Vs é o volume da solução de NaOH 0,5 N (20 mL).

fc é o fator de correção igual a 1.

Na é a concentração da solução de ácido sulfúrico (0,5 N).

Va é o volume gasto de ácido na titulação em mL.

c) Solução de hidróxido de sódio 0,1 N

Dissolveu 4 g de NaOH PA em 1 litro de água destilada. Adicionar 1 a 2 g de cloreto de bário (BaCl_2) para eliminar gás carbônico. No caso, foi utilizado cloreto de bário dihidratado ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), então seguiu a relação $244,26 \text{ g BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 208,23 \text{ g BaCl}_2$, assim para 1 g de BaCl_2 pesou 1,1730 g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

d) Determinação do fator de correção (f_B) da solução de NaOH 0,1 N

Coletar 25 mL de solução de hidróxido de sódio 0,1N em erlenmeyer com capacidade de 250 mL, adicionar 1 gotas de fenolftaleína e titular com solução de ácido sulfúrico 1N. O ponto de viragem será da cor rosa para o transparente e anotar o volume gasto de ácido (V_a) (aproximadamente 8 ml). Em seguida, adicionar o indicador alaranjado de metila (1 gota a cada 100mL de solução a titular) e titular novamente com ácido sulfúrico 1N e anotar volume gasto (V_b). O ponto de viragem será do amarelo a esquerda para a cor alaranjada à direita da mesma (Figura E.1).

Figura E.1 - Ponto de viragem com indicador alaranjado de metila



O valor da diferença entre o volume a e o volume b obtido será multiplicado por 5,61 e obterá a massa de NaOH em miligrama. Com a relação $0,1\text{N} = 5,611 \text{ mg de NaOH}$ aplica se para a massa de NaOH obtida.

$$\text{NaOH (mg)} = 5,61(Va - Vb)$$

$$f_b = \frac{\text{NaOH (mg)} * 0,1}{5,611}$$