



**Campus de São Carlos**

**AVALIAÇÃO DO ANTAGONISMO DO EFEITO DO  
SÓDIO SOBRE O TRATAMENTO DE ÁGUA  
RESIDUÁRIA DE CHARQUEADA COM ELEVADA  
SALINIDADE EM REATOR ANAERÓBIO DE MANTA  
DE LODO (UASB)**

**LARISSA NOGUEIRA OLMO**

**Orientador: Prof. Dr. MARCELO ZAIAT**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**



**ESCOLA DE ENGENHARIA  
DE SÃO CARLOS**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS  
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM HIDRÁULICA E SANEAMENTO**

**AVALIAÇÃO DO ANTAGONISMO DO EFEITO DO SÓDIO  
SOBRE O TRATAMENTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE  
CHARQUEADA COM ELEVADA SALINIDADE EM REATOR  
ANAERÓBIO DE MANTA DE LODO (UASB)**

**LARISSA NOGUEIRA OLMO**

Dissertação apresentada à  
Escola de Engenharia de  
São Carlos da Universidade  
de São Paulo, como parte  
dos requisitos para a  
obtenção do título de  
Mestre em Hidráulica e  
Saneamento.

DEDALUS - Acervo - EESC



31100053696

**ORIENTADOR: PROF. DR. MARCELO ZAIAT**

**SÃO CARLOS  
JUNHO, 2005**



Class.	TESE - EESC ✓
Cutt.	4045
Tombo	T 036/06
Sysno	1493642

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP


051a	<p>Olmo, Larissa Nogueira</p> <p>Avaliação do antagonismo do efeito do sódio sobre o tratamento de água residuária de charqueada com elevada salinidade em reator anaeróbico de manta de lodo (UASB) / Larissa Nogueira Olmo. -- São Carlos, 2005.</p> <p>Dissertação (Mestrado) -- Escola de Engenharia de São Carlos-Universidade de São Paulo, 2005. Área: Hidráulica e Saneamento. Orientador: Prof. Dr. Marcelo Zaiat.</p> <p>1. Degradação anaeróbia. 2. UASB. 3. Antagonismo. 4. Sódio. 5. Charqueada. I. Título.</p>
------	--



**FOLHA DE JULGAMENTO**

Candidato: Engenheiro **LARISSA NOGUEIRA OLMO**


Dissertação defendida e julgada em 10-06-2005 perante a Comissão Julgadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Associado **MARCELO ZAIAT (Orientador)**  
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)


Aprovada

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Titular **EUGENIO FORESTI**  
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)

Aprovada

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. **ROQUE PASSOS PIVELI**  
(Escola Politécnica/USP)

APROVADA

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Titular **MARIA DO CARMO CALJURI**  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia (Hidráulica e Saneamento) e  
Presidente da Comissão de Pós-Graduação



**Dedico este trabalho**

**A minha Vó Tunila que tanto me ensinou.....**

**A minha Tia Rita que ajudou muito a me formar em engenharia.....**

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marcelo Zaiat pela existência dele aqui na terra, pois é um ser humano raro e para mim foi um privilégio poder trabalhar com ele. Obrigada, Marcelo, por ter tornado possível essa pesquisa, por ter me dado segurança, pelo apoio, pela amizade e pela PACIENTE orientação. Quando eu voltar para fazer doutorado não quero jamais outro orientador.....serei Marcelete sempre.....

Ao Prof. Eugenio Foresti pela amizade, apoio, carinho e pelas críticas e sugestões recebidas no Exame de Qualificação.

Ao Marcus Vallero pelas belíssimas observações também recebidas no Exame de Qualificação.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Bernadete por ter orientado a Areta, aluna de biologia da iniciação científica, que fez toda parte da microbiologia. Valeu Berna.....

Ao Paulo Fragiácomo, Júlio César Trofini, Eloísa Pozzi pelo apoio durante a fase experimental dessa pesquisa.

À Prof<sup>ª</sup>. Bete e Janja pela ajuda no laboratório. Elas são pessoas fundamentais para o desenvolvimento das pesquisas. Obrigada pelos ensinamentos e principalmente pela paciência de quando a gente entra no laboratório e não sabe nem desligar um destilador.

À Savinha querida, minha amiga, minha irmã, minha futura madrinha, obrigada pela força, pelos palpites na pesquisa, pela amizade sincera, pela companhia, por não ter deixado eu desistir.....serei eternamente grata.

A Livia querida, minha amiga, minha prima, minha futura madrinha, obrigada pelo incentivo de fazer o mestrado, pela nova visão que tenho hoje de saneamento, pela paciência nos dias em que estava distraída ou cansada, obrigada por tudo..... serei também eternamente grata.

À Daniela Rossi que é parte integrante deste trabalho. Sem ela eu não teria conseguido, obrigada, Dani, pela força do trabalho, pela dedicação, por vir fazer análises aos sábados comigo, pela amizade sincera e pelas boas risadas que tivemos.....

À Areta por ter colaborado muito com os resultados das microscopias. Medir 1000 grânulos não foi fácil, né Areta?

Ao Fernandão que me incentivou a fazer o mestrado e também pela amizade sincera e duradoura.

À Valquíria pela companhia aos sábados e pela doce amizade e a Tininha pela ajuda na microscopia e pela boa vontade de sempre auxiliar.

Aos amigos queridos que me acompanharam durante esse trabalho: Bruna, Bruninha, Ana Paula Miqueleto, Ana Flávia, Rogers, Samantha, Andréa, Isabel, Sandra, Madalena, Júlia, Luana, Katy, Kátia, Flavinha, Gabriel, Pedro, Alexandre, Ari, Betão, Roberto, Karina do Fernandão, Karina da Federal, Monique, Marcinha, Dalva, Dú, Estela, Cris, Fábio e Renata. Obrigada por toda ajuda, pelos palpites na pesquisa, pelas conversas sadias e pela convivência.

Ao Swami, Ivete, Sheila obrigada pela compreensão quando eu estava ausente, obrigada pela força e incentivo. Darci e Lili, agradeço a vocês também pela amizade e pelo apoio.

Aos meus familiares, pela força, pelo apoio, pela compreensão quando eu estava chata, cansada e irritada. Obrigada, minha mãe Mada, pela vida que você me proporcionou, pelo carinho, pela bondade e principalmente pelo exemplo de ser humano. Ao meu pai que embora distante me deu a vida.

Ao meu namorado Marcelo pela paciência, pelo incentivo, pelo amor que ele dedicou a mim nos momentos mais difíceis. Valeu gordo!!!!!!

Agradeço aos espíritos amigos pela força e proteção. E a Deus por ter me acompanhado nessa caminhada.



ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vii
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 - OBJETIVOS.....	4
2.1 - Objetivo geral.....	4
2.2 - Objetivos específicos.....	4
3.- REVISÃO DA LITERATURA.....	5
3.1 - Tratamento anaeróbio de águas residuárias.....	5
3.2 -Toxicidade por sais em sistemas anaeróbios.....	6
3.3 - Compostos utilizados como antagonistas dos efeitos tóxicos do sódio.....	10
3.4 - Características de organismos que sobrevivem em altas concentrações de NaCl.....	13
3.5 - Considerações finais.....	14
4.- MATERIAL E MÉTODOS.....	16
4.1- Reatores.....	16
4.2 - Água residuária sintética.....	18
4.3 –Inóculo.....	19
4.4 - Métodos analíticos.....	19
4.4.1 - pH, DQO, sólidos, ácidos voláteis totais, alcalinidade, cloretos, sódio, potássio, cálcio, óleos e graxas, nitrogênio total, fósforo e composição de gás.....	19
4.4.2 - Exames microbiológicos.....	20
4.5 -Procedimento experimental.....	22
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5.1 - Características do substrato sintético.....	25
5.2 - Fase Zero.....	26
5.3 - 1ª a 6ª Fase.....	29
5.4 - Exames Microbiológicos na Manta de Lodo.....	43
5.5 - Características da operação de reator UASB aplicado ao tratamento de efluente de indústria de charque.....	51
6 - CONSIDERAÇÕES.....	54
7 - CONCLUSÕES.....	56

## Índice

---

<b>8 - SUGESTÕES.....</b>	<b>58</b>
<b>9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>59</b>
<b>ANEXOS – FOTOS DO PROCESSO INDUSTRIAL .....</b>	<b>63</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 - Reatores UASB	17
Figura 4.2 – Esquema do Reator UASB	17
Figura 4.3 – Esquema do aparato experimental utilizado	18
Figura 5.1 - pH afluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4, para fase zero	27
Figura 5.2 - pH efluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4, para fase zero	27
Figura 5.3 - Alcalinidade a bicarbonato afluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4 na fase zero	28
Figura 5.4 - Alcalinidade a bicarbonato efluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4 na fase zero	28
Figura 5.5 - Eficiência de remoção de DQO para os Reatores 1, 2, 3 e 4, na fase zero	29
Figura 5.6 - pH afluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4, da 1ª a 6ª fase	30
Figura 5.7 - pH efluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4, da 1ª a 6ª fase	30
Figura 5.8 - Alcalinidade a bicarbonato afluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4, da 1ª a 6ª fase	31
Figura 5.9 - Alcalinidade a bicarbonato afluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4, da 1ª a 6ª fase.	31
Figura 5.10 – Médias da carga orgânica volumétrica aplicada e removida para os Reatores 1, 2, 3 e 4 da 1ª a 6ª fase	34
Figura 5.11- DQO afluente, efluente e eficiência de remoção para o Reator 1	35
Figura 5.12 - DQO afluente, efluente e eficiência de remoção da 1ª a 6ª fase para o Reator 2 com adição de NaCl	35
Figura 5.13 - DQO afluente, efluente e eficiência de remoção da 1ª a 6ª fase para o Reator 3 com adição de NaCl e Betaína	36
Figura 5.14 - DQO afluente, efluente e eficiência de remoção da 1ª a 6ª fase para o Reator 4 com adição de NaCl, Potássio e Cálcio	36
Figura 5.15 - Concentrações de Ácidos Voláteis no afluente e efluente para o controle, Reator 1	37
Figura 5.16 - Concentrações de Ácidos Voláteis no afluente, efluente da 1ª a 6ª fase para o Reator 2 com adição de NaCl	37
Figura 5.17 - Concentrações de Ácidos Voláteis no afluente e efluente da 1ª a 6ª fase para o Reator 3 com adição de NaCl e Betaína	38



Figura 5.18 - Concentrações de Ácidos Voláteis no afluente e efluente da 1ª a 6ª fase para Reator 4 com adição de NaCl, potássio e cálcio	38
Figura 5.19 - Lodo da base do Reator 1	40
Figura 5.20 - Lodo flotado no Reator 1	40
Figura 5.21 - Lodo da base do Reator 2	40
Figura 5.22 - Lodo flotado no Reator 2	40
Figura 5.23 - Lodo da base do Reator 3	41
Figura 5.24 - Lodo flotado no Reator 3	41
Figura 5.25 - Lodo da base do Reator 4	41
Figura 5.26 - Lodo flotado no Reator 4	41
Figura 5.27- Morfologias observadas sob microscopia de contraste da fase no inóculo e nas amostras dos reatores 2, 3 e 4 até a 3ª fase. (A1) Morfologia semelhante a <i>Methanosarcina</i> sp. ; (A2) Morfologia semelhante a <i>Methanosaeta</i> sp, (A3) Bacilos Delgados, (A4) Víbrio	46
Figura 5.28 - Observações morfológicas sob microscopia de contraste de fase e epifluorescência encontradas a partir da 4ª Fase para o Reator 2: (B1) Bacilos de dimensões variadas, (B2) Morfologia semelhante a <i>Methanosaeta</i> sp. , Bacilos de dimensões variadas, víbrios e cocobacilo, (B3 e B4) morfologia semelhante a de cistos de <i>Methanosarcina</i> sp.	47
Figura 5.29 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura para o Reator 1: (C1) morfologia semelhante a <i>Methanosarcina</i> sp. e (C2) Bacilos de dimensões variadas e morfologia semelhante <i>Methanosarcina</i> sp.	48
Figura 5.30 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura para o Reator 2: (D1) Cocos e (D2) morfologia semelhante a <i>Methanosarcina</i> sp.	48
Figura 5.31 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura para o Reator 3: (E1) morfologia semelhante a <i>Methanosarcina</i> sp. e (E2) cocos bacilos de diversos tamanhos	49
Figura 5.32 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura para o Reator 4: (F1) e (F2) cocos, bacilos de extremidades arredondadas, retos, curtos e longos e víbrios	49

Figura 5.33 - Observações morfológicas sob microscopia de contraste de fase e 52 epifluorescência encontradas para a indústria A: (G1) Morfologia semelhante a *Methanosaeta* sp., (G2) Bacilos hidrogenotróficos, (G3) bactérias fototróficas e (G4) Morfologia semelhante a *Methanosarsinca* sp e nanobactéria.

Figura 5.34 - Observações morfológicas sob microscopia de contraste de fase e 53 epifluorescência encontradas para a indústria B: (H1) bacilos., (H2) Cocos, (H3) Morfologia semelhante a *Methanosarsinca* sp e (H4) bactérias fototróficas

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Variação dos limites máximos de sódio ( $g.l^{-1}$ ) segundo alguns autores	9
Tabela 3.2 - Microrganismo x soluto compatível acumulado	14
Tabela 4.1:- Composição do esgoto sintético para concentração de DQO de 5000 $mg.l^{-1}$	19
Tabela 4.2:- Parâmetros, métodos e frequência das análises	20
Tabela 4.3:- Resumo do procedimento experimental	24
Tabela 5.1 – Resumo dos dias de início e duração do experimento	25
Tabela 5.2 – Concentrações de alguns parâmetros no substrato	26
Tabela 5.3 -. Concentrações de Sólidos Suspensos Voláteis média ( $mg.l^{-1}$ ) para os quatro reatores	39
Tabela 5.4 -. Concentrações de Sólidos Suspensos Voláteis média ( $mg.l^{-1}$ ) para os quatro reatores	39
Tabela 5.5 - Concentrações afluente de cloretos ( $mg.l^{-1}$ ) para os quatro reatores	42
Tabela 5.6 - Concentrações afluente de sódio ( $mg.l^{-1}$ ) para os quatro reatores	42
Tabela 5.7 – Produção média de biogás em $mL.d^{-1}$ para os quatro reatores	43
Tabela 5.8 - Morfologia dos microrganismos presentes nos reatores ao longo do experimento	44
Tabela 5.9 - Morfologia dos microrganismos presentes nos reatores ao longo experimento	45
Tabela 5.10 - Medidas da área, largura e comprimento dos grânulos da ultima fase experimento (6ª fase) para os quatro reatores	50
Tabela 5.11 - Porcentagem da população de Arqueas e Eubactérias	50



**RESUMO**

**OLMO, L.N. (2005); Avaliação do antagonismo do efeito do sódio sobre o tratamento de água residuária de Charqueada com elevada salinidade em Reator Anaeróbico de Manta de Lodo (UASB). Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.**

As águas residuárias provenientes da Indústria do Charque são conhecidas por apresentarem elevado teor de cloreto de sódio, aliado a grandes concentrações de matéria orgânica proveniente do sangue liberado ao longo do processo industrial. Esse tipo de água residuária apresenta potencial para degradação biológica, contudo, o cloreto de sódio, em concentração elevada, pode inibir a atividade dos microrganismos e, em alguns casos, levar sistemas biológicos à falência. No presente trabalho, foi avaliada a viabilidade de degradação anaeróbia de efluente sintético de charqueada contendo elevado teor de cloreto de sódio, em reator anaeróbio tipo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), em escala de laboratório. Foram utilizados 4 reatores, alimentados com água residuária sintética com características similares à água residuária de charqueada. O reator 1 foi utilizado como controle, o reator 2 recebeu NaCl e os demais (3 e 4) foram operados na presença de NaCl acrescidos de: betaína e potássio com cálcio, respectivamente. Os compostos citados são conhecidos como antagonizantes, por possuírem capacidade de minimizar o efeito inibitório do sódio sobre o processo de digestão anaeróbia. Os reatores foram inoculados com lodo de reator UASB e submetidos à concentração de  $5000 \text{ mg.l}^{-1}$  de matéria orgânica, como DQO. A carga orgânica aplicada foi de  $5 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$  e os reatores não suportaram tal carga. Reiniciou-se a operação com aumento progressivo da DQO de 500 a  $2.000 \text{ mg.l}^{-1}$  resultando em carga orgânicas de 0,5 a  $2,0 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ , respectivamente. Após estabilização dos reatores, iniciou-se a fase de introdução de cloreto de sódio ( $1.500$  a  $13.500 \text{ mg.l}^{-1}$ ) e antagonizantes com aumento progressivo a cada fase. Na presença ou ausência de antagonizantes, os reatores 2, 3 e 4 não tiveram o desempenho alterado até a concentração de NaCl de  $6.000 \text{ mg.l}^{-1}$ . Na presença de  $9.000 \text{ mg.l}^{-1}$  de NaCl, a betaína se mostrou pouco efetiva como soluto compatível no reator 3 e os antagonizantes do reator 4, potássio e cálcio, apresentaram efeitos estimulatórios. As morfologias

encontradas ao longo do experimento foram cocos, víbrios, bacilos, sarcinas, além de morfologias semelhantes a *Methanosarcina* sp. e *Methanosaeta* sp. O aumento da concentração de cloreto de sódio provocou a redução da população de Arqueas.

Palavras-chave: degradação anaeróbia, UASB, antagonismo, sódio, charqueada

**ABSTRACT**

**OLMO, L.N. (2005); Evaluation of antagonism on the effect of sodium in wastewater treatment of “Charqueada” with high salinity using Anaerobic Sludge Blanket Reactor (UASB). Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.**

Wastewaters from the “Charque Industry” (salted and dried meat) are known for their high levels of sodium chloride, allied to high organic concentrations originary from blood which is disposed along the industrial process. That kind of wastewater presents good potential for biological degradation (relationship DBO/DQO approximately 0,5). However, the high concentration of sodium chloride can inhibit microorganisms activity and in some cases, take the biological systems to failure. The present work studied the viability of anaerobic degradation of synthetic “charqueada” wastewater, containing high salinity, in reactor UASB, at laboratory scale. Four reactors were used. Reactor 1 was used as control, reactor 2 received just NaCl and the two others (3 and 4) were operated in the presence of NaCl in increased with betaine and potassium with calcium, respectively. The mentioned compounds are known to be antagonists, for they possess capacity to minimize the inhibitory effect of sodium in the anaerobic digestion process. The reactors were inoculated with UASB sludge and the operation began with concentration from 5000 mg.l<sup>-1</sup> of organic matter, expressed as DQO. The organic load applied from 5,0 kg.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup> and the reactors did not support such load. The operation was restarted with progressive increase of 500 to 2000 mg.l<sup>-1</sup> of DQO, resulting in organic load from 0,5 to 2,0 kg.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, respectively. After reactors stabilization, the phase of introduction of NaCl (1.500 to 13.500 mg.l<sup>-1</sup>) and antagonists was started, with the progressive increase of sodium chloride and antagonists. In presence or absence of antagonists, reactors 2, 3 and 4 did not present performance alterations until the concentration of NaCl of 6.000 mg.l<sup>-1</sup> was reached. When NaCl concentrations were from 9.000 to 13.500 mg.l<sup>-1</sup>, betaine was shown to have small effects in the reactor 3 and the antagonists of reactor 4, potassium and calcium, presented stimulant effects. The morphologies found along the experiment were: coconuts, vibrios, bacilli, sarcinas, besides



morphologies similar to the *Methanosarcina* sp. and *Methanosaeta* sp. When concentrations of sodium chloride were increased the population of Arqueas were reduced.

Keywords: anaerobic degradation, UASB, antagonistic, sodium, charqueada

## 1 - INTRODUÇÃO

Charque é o nome dado à carne bovina salgada e dessecada, resultado da salga forte de manta de carne desossada, seguida de exposição ao sol até atingir o ponto de dessecação que permita a conservação do produto em condições ambientais, normalmente por 90 dias. É um processo que, além de inibir o crescimento de bactérias, preserva o produto de ações prejudiciais provocadas pelo excesso de umidade e reduz custos de embalagem, armazenamento e transporte, já que não é necessária a manutenção sob refrigeração.

O processo de charqueamento consiste em:

Salga úmida: emprega exclusivamente o sal em solução a 23° Baumé ou 95° salômetros (335g de sal/kg de água), em tanques especiais, com movimentação constante das peças de carne por 30 a 40 minutos, à temperatura de 15°C;

Salga seca: operação realizada após a retirada da carne da salmoura, com 12 horas de duração;

Ressalga: consiste na adição de sal, de primeiro uso, entre as diversas camadas de carne. Realizada com a porção gordurosa voltada para cima;

Tombos: quando a carne encontra-se na forma de pilha, são realizadas inversões em que a parte inferior das peças fica voltada para cima formando uma nova pilha.

Lavagem prévia: realizada em tanques especiais com água e cloro ativo, imediatamente antes das estendidas feitas para dessecação e remoção do excesso de sal. As peças de carne curadas e lavadas são empilhadas para o escoamento da água.

Dessecação: ocorre ao ar livre, através de exposições aos raios solares e ao vento. É realizada com a carne disposta em varais.

Estendidas: segue-se um descanso (de três a sete dias ao sol) acompanhado de novas estendidas, intercaladas com descansos.

Embalagem: o charque é prensado formando pequenos pacotes, embalado em fatias de 500 g a 1 kg em envoltório plástico, sob vácuo.

Em anexo estão apresentadas as fotos do processo industrial de uma indústria de Charque localizada no interior de São Paulo.

Para o funcionamento da Indústria de Charque é exigido o alvará de Licença Ambiental, no qual alguns parâmetros devem estar em conformidade com os padrões de lançamento estabelecidos pela legislação estadual (Lei 997 de 31 de maio de 1976), tais como: DBO (remoção de 80% ou até 60  $\text{mg.l}^{-1}$ ), pH (variando de 5,0 a 9,0) e óleos e graxas (até 100  $\text{mg.l}^{-1}$ ). A presença de sódio pode prejudicar a degradação biológica da matéria orgânica, o que pode levar a Indústria de Charque a ser penalizada pelos órgãos fiscalizadores. Além disso, o lançamento de efluente com alto teor de sódio e de matéria orgânica pode prejudicar o corpo receptor.

Esse projeto teve origem em problema real ocorrido em Indústria de Charque localizada no Estado de São Paulo que operou, por 3 anos, um reator UASB para tratamento de seus efluentes líquidos e apresentou grandes dificuldades de remoção biológica de matéria orgânica. Algumas tentativas para estabilização do processo de tratamento e garantia de uniformidade do efluente não foram satisfatórias, como: introdução de farinha de sangue e de resíduos de indústria de bolacha para suplementação de matéria orgânica e diluição da concentração de sal afluente ao reator. No entanto, conquistas de obtenção de degradação efetiva são lentas, exigindo penosos esforços de controle operacional sem, no entanto, ter-se explicação sobre os caminhos metabólicos e destino final do sal. Em dados fornecidos por esta empresa, associados a variações de vazões de acordo com a produção, verifica-se que as concentrações de matéria orgânica (DQO e DBO) e teor de cloretos afluentes ao reator apresentaram grandes variações, com maiores ocorrências entre 10 a 15  $\text{g.l}^{-1}$ ; 1 a 10  $\text{g.l}^{-1}$  e 30 a 60  $\text{g.l}^{-1}$  respectivamente. Em relação ao efluente final, concentrações de 0 a 5  $\text{g.l}^{-1}$ ; 5  $\text{g.l}^{-1}$  e 10  $\text{g.l}^{-1}$  (para DQO, DBO e teor de cloretos, respectivamente) são obtidas. A carga orgânica aplicada neste reator variava de 2 a 5  $\text{kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ .

Como visto, um dos grandes problemas relacionados ao tratamento dos despejos gerados a partir da linha de processamento do charque é a presença de quantidade elevada de sal, sendo concentrações de cloreto entre 30.000 a 60.000  $\text{mg.l}^{-1}$  e a partir dessas concentrações estima-se as concentrações de sódio, que resultam em 20.000 a 40.000  $\text{mg.l}^{-1}$ . Essas concentrações de sódio dificultam o tratamento biológico, embora elevada quantidade de matéria orgânica esteja presente.

Poucos estudos têm sido realizados sobre os efeitos da alta salinidade nos sistemas anaeróbios de tratamento. A falta de informação pode levar as indústrias produtoras de efluentes com alta concentração de sódio a persistirem nos erros de projeto e operação dos seus sistemas de tratamento. Além de indústrias de charque,



indústrias produtoras de pesticidas, herbicidas, compostos polihídricos, indústria de processamento de frutos do mar, de torresmo, de picles e queijos e de peróxidos orgânicos também geram águas com elevado teor de sal.

É conhecido que a toxicidade de sais, como o cloreto de sódio, está relacionada à presença do cátion  $\text{Na}^+$ . Alguns compostos químicos como betaína, potássio e cálcio possuem a capacidade de minimizar a toxicidade do sódio em sistemas biológicos de tratamento, processo esse conhecido como antagonismo.

O grupo de pesquisa em processos anaeróbios do LPB (Laboratório de Processos Biológicos) do Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos –USP possui grande experiência sobre a utilização do processo de digestão anaeróbia de diversos tipos de águas residuárias. No entanto, nenhum estudo tinha sido realizado sobre a toxicidade que cátions causam sobre o metabolismo dos microrganismos.

Diante disso, neste trabalho foi avaliada a capacidade dos compostos betaína (soluto compatível), potássio juntamente com cálcio, em minimizar os efeitos tóxicos que o cloreto de sódio exerce sobre o processo anaeróbio de degradação da matéria orgânica presente em águas residuárias com características similares a efluente de charqueada. Além disso, a dosagem do antagonizante foi variada com o objetivo de se obter um valor adequado ao processo visando à aplicação prática.

Nesse sentido, o interesse em tratar águas residuárias com alta salinidade não é puramente acadêmico, abrangendo inúmeras indústrias que necessitam de pesquisas nessa área (YERKES *et al.*, 1997). Devido à grande carência de estudos nessa área, os resultados dessa pesquisa apresentam potencial de aplicação, praticamente imediato.



## **2 - OBJETIVOS**

### **2.1 - Objetivo geral**

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade dos elementos potássio, cálcio e do composto betaína em minimizar os efeitos tóxicos do sódio sobre o processo anaeróbio de degradação da matéria orgânica de água residuária sintética com características similares as de efluente de charqueada.

### **2.2 - Objetivos específicos**

Os objetivos específicos dessa pesquisa foram:

- ⇒ Avaliar o efeito inibitório do sódio sobre o processo de digestão anaeróbia;
- ⇒ Obter a melhor condição para minimizar o efeito do sódio;
- ⇒ Avaliar o comportamento da biomassa microbiana quando submetida ao aumento gradativo da concentração de sódio e de diferentes antagonizantes.

### 3.- REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 - Tratamento anaeróbio de águas residuárias

O processo de digestão anaeróbia pode ocorrer em ambientes onde exista material orgânico disponível e o potencial redox seja baixo (concentrações de oxigênio próximas de zero), como, por exemplo, sedimentos de lagos, aterros sanitários e até em coletores de esgoto doméstico.

Desde os anos 70, a preocupação com o consumo de energia e também a valorização da ocupação do solo pôs em destaque o tratamento anaeróbio. Com este enfoque, foram desenvolvidas formas de retenção de biomassa dentro do reator, proporcionando a utilização de elevados tempos de retenção celulares, o que resultou em unidades de tratamento com menores volumes, com a diminuição do tempo de detenção hidráulica. Por esse motivo, esses reatores foram classificados como sendo de alta taxa (UASB, reatores de leito fluidizado, filtros anaeróbios, entre outros). Os sistemas com reatores anaeróbios representam, na atualidade, tecnologia comprovadamente sustentável para tratamento de ampla variedade de efluentes industriais e de os esgotos sanitários. Sua utilização vem crescendo principalmente em regiões de clima tropical e subtropical.

A grande vantagem dos reatores anaeróbios encontra-se no fato de a massa microbiana desenvolvida ser, geralmente, bastante diversificada, sendo por isso, capaz de adaptar-se a diferentes tipos de resíduos, sem grandes exigências nutricionais.

Os reatores UASB têm-se mostrado cada vez mais atrativos devido às facilidades de operação do sistema, quando comparado com sistemas aeróbios de tratamento. Outra facilidade dessa opção é a compacidade do sistema, e a possibilidade de construção em módulos, baixando muito os custos. A produção de lodo nesses reatores é extremamente baixa, sendo esta outra vantagem do sistema. A partida do reator poderia ser motivo de preocupação, porém a inoculação do mesmo com lodo digerido pode acelerar muito este processo, reduzindo o mesmo de alguns meses para poucas semanas. Além dessas vantagens, o reator UASB tem sido aplicado em águas residuárias contendo compostos tóxicos e inibidores (PUÑAL *et al.* 1999).

Nessa pesquisa utilizou-se o reator UASB que apresenta fluxo ascendente através de uma manta de lodo sedimentável. A estabilização da matéria orgânica ocorre na zona da manta de lodo. Não há necessidade de dispositivos de mistura, já que esta é promovida pelo fluxo ascensional e pelas bolhas de gás. Na parte superior do reator ocorre a separação de fases gás-líquido-sólido, por meio de dispositivo especial típico desse tipo de reator. Apesar de partículas mais leves se perderem juntamente com o efluente, o tempo de detenção médio dos sólidos no reator é mantido suficientemente elevado para garantir uma massa densa de microrganismos (CHERNICHARO, 1997).

### 3.2 -Toxicidade por sais em sistemas anaeróbios

A toxicidade, de modo geral, pode ser definida como um efeito adverso, não necessariamente letal, sobre o metabolismo bacteriano. A toxicidade de uma substância depende da dose e do tipo de sistema biológico empregado. Antagonismo pode ser definido como o efeito contrário produzido por um elemento sobre o outro ou sobre uma função bioquímica no organismo.

Segundo WOOLARD e IRVINE (1995), alta concentração de sal pode romper membranas celulares e desnaturar enzimas que são letais à maioria dos microrganismos. Os autores também afirmam que concentrações crescentes de sal tendem a perturbar as funções metabólicas normais e reduzir a velocidade de degradação da matéria orgânica.

Alto teor de salinidade na água residuária pode causar plasmólise (perda de água do interior da célula para o meio) e perda da atividade celular, reduzindo a eficiência de remoção de matéria orgânica. Além disso, mudanças na força iônica do meio provocada por excesso de cátion, por exemplo, prejudicam o desempenho do sistema biológico, devido à sensibilidade dos microrganismos a tais mudanças (KARGI e DINCER, 1996).

Especificamente, concentrações elevadas de sódio causam stress osmótico da célula ou inibem rotas de degradação do substrato, reduzindo a eficiência do tratamento ou provocando a falência do reator. Diversos pesquisadores observaram que a presença de solutos compatíveis dentro das células bacterianas pode ajudar a balancear o stress associado a altas concentrações de sódio no meio líquido (YERKES *et al.*, 1997).

LUDZACK e NORAN (1965) afirmam que dois fatores podem afetar a fisiologia das arqueas metanogênicas: a constituição catiônica celular e a concentração do cátion do meio. De acordo com os autores, a inibição por cátions (em base molar) segue a seguinte ordem: sódio, amônio, potássio, cálcio e magnésio. Além disso, os



autores constataram que a inibição causada pelo excesso de um cátion pode ser minimizada pela ação de outro.

FRANKLIN *et al.*, (1994)<sup>1</sup> apud SPEECE (1996) avaliaram o tratamento de água residuária resultante da produção de metileno oxidopropênico, caracterizada por apresentar concentrações de Na<sup>+</sup> de 10.000 a 15.000 mg.l<sup>-1</sup>, bem como elevadas concentrações de benzoato e acetato, em reator UASB. O reator foi operado por 5 anos, com vazão de 30 m<sup>3</sup>/h, carga orgânica volumétrica de 10 a 20 kg DQO/m<sup>3</sup>.d e DQO média afluyente de 20.000 mg.l<sup>-1</sup>, tendo sido alcançadas eficiências médias de remoção de DQO de 90 a 95%.

No trabalho de MENDEZ *et al.* (1995), cerca de nove meses foram necessários para partida de filtros anaeróbios mesofílicos e termofílicos (FAM e FAT) alimentados com água residuária contendo com concentrações de sódio de 8.500 mg.l<sup>-1</sup>. Após operação estável, eficiências de tratamento similares foram alcançadas nos reatores, para taxas de carregamento orgânico iguais a 9 e 24 kg/m<sup>3</sup>.dia aplicadas para FAT e FAM, respectivamente. Os autores observaram que elevadas concentrações de Na<sup>+</sup> resultaram na perda da capacidade de produção de polissacarídeos extracelulares, o que resultou em crescimento disperso dos microrganismos ou na formação de pequenos agregados. Com isto, ficou demonstrado claro contraste com os grandes agregados formados em filtros anaeróbios convencionais funcionando na ausência de salinidade.

FEIJOO *et al.* (1995) afirmaram que, na presença de sódio em sistemas anaeróbios utilizando ácidos graxos voláteis como substrato e lodo granular, o ácido orgânico butirato foi mais afetado do que os outros ácidos quando a concentração de sódio atingiu 6 g.l<sup>-1</sup>, enquanto que em lodo de filtro anaeróbio o propionato se mostrou mais sensível na presença de até 10 g.l<sup>-1</sup> de sódio.

KUGELMAN e CHIN (1971) relataram que a adaptação pode representar um ajuste na população biológica para o efeito adverso da toxina. Ou ainda, uma reorganização da capacidade metabólica dos organismos em superar o metabolismo modificado produzido pela substância tóxica. Reduções significativas na toxicidade pode ser obtida se a concentração da substância tóxica é aumentada lentamente do que um aumento de uma única vez.

KUGELMAN e McCARTY (1965) explicam que a variação dos resultados da

---

<sup>1</sup> FRANKLIN, R.J. W.M.A van Gils, and R.J.F. Wermeling, (1994) Full-Scale Anaerobic Treatment of Shell Wastewater Containing Dimethylterephthalate (DMT) wastewater, Proc. 7<sup>th</sup> International Symposia on Anaerobic Digestion – South Africa, pp 248.



toxicidade dos cátions em sistemas anaeróbios é devido à influência da complexidade dos vários efeitos dos cátions incluindo antagonismo e sinergismo. Estes autores ainda relatam que os cátions possuem um papel nutricional no metabolismo de todos os organismos, pois, servem como ativadores enzimáticos para várias reações bioquímicas. De acordo com os autores, ocorre uma interação entre cátions e enzimas, sendo essas interações designadas como produtoras de estimulação quando o ativador metálico correto se une à enzima, resultando em aumento da velocidade de reação. Entretanto, efeitos tóxicos podem ser produzidos quando a enzima se une ao ativador metálico errado, o que diminui a velocidade de reação. O antagonismo pode ser explicado como uma espécie de competição, entre o cátion funcional e o não-funcional, pela superfície enzimática. O cátion funcional é um componente nutricional que a célula necessita em maior quantidade do que o não funcional.

RINZEMA *et al.* (1988) informaram que muitos resultados conflitantes têm sido publicados a respeito da concentração máxima de sódio, permitida em digestores anaeróbios. Contudo, diversos fatores podem explicar essas divergências, tais como: efeitos antagônicos e sinérgicos (causado pela presença de outros cátions) e diferença na sensibilidade entre os microrganismos. Segundo FEIJOO *et al.* (1995), além desses fatores citados por RINZEMA *et al.* (1998), a adaptação anterior do lodo e a baixa relação entre substrato e biomassa utilizada em ensaios contínuos podem interferir na concentração limite de  $\text{Na}^+$  em sistemas anaeróbios. Este autor também afirma que a concentração de sódio pode ser aumentada dentro dos reatores pelo uso de NaOH ou  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  para controle do pH. A maior razão dessas variações é a complexidade do fenômeno da toxicidade (KUGELMAN e CHIN, 1971).

A Tabela 3.1 apresenta a variação dos limites máximos de sódio ( $\text{g.l}^{-1}$ ) para sistemas anaeróbios de acordo com alguns autores. Existem outros estudos do limite de sódio em digestores anaeróbios que não foram citados nesta tabela, pois o interesse aqui era ter um indicativo dos limites em lodo granular e em microrganismos metanogênicos.

Tabela 3.1 - Variação dos limites máximos de sódio em sistemas anaeróbios ( $g.l^{-1}$ ) segundo alguns autores

Autor	Concentração de sódio ( $g.l^{-1}$ )	Tipo de reator	Tipo de lodo	Água Residuária anteriormente submetida	Água Residuária
Kugelman eMcCarty (1965)	3,5 a 5,5	Metanogênico	-	-	-
Lettinga e Vinken apud Rinzema <i>et al.</i> (1988)	21,0 a 24,0 *	UASB	granular	-	Chucrute (repolho fermentado)
Feijoo <i>et al.</i> (1995)	7,0*	UASB	granular	Processamento de batata	Ac. Voláteis
	> 10,0*	UASB	granular	Processamento de batata	Glicose
	7,0**	Batelada	granular	Processamento de batata	HAc
	7,2**	Batelada	granular	Processamento de batata	Ac. Voláteis
Speece (1996)	>10,0	-	-	Anaeróbio para biomassa adaptada	-
Rinzema <i>et al.</i> (1988)	11,0 a 12,0	UASB	granular	-	Acidificada
De Baere <i>et al.</i> (1984)	≤ 26,0	Metanogênico	-	Anaeróbio para biomassa adaptada	Etanol e acetato

Nota: \* para 50% de redução da atividade metanogênica e \*\* para 100%.

### 3.3 - Compostos utilizados como antagonistas dos efeitos tóxicos do sódio

MCCARTY (1964) observou que a remoção de materiais tóxicos em solução pela precipitação ou formação de complexos controla a toxicidade resultante de alguns materiais. Esses materiais em solução podem ser tóxicos para a vida biológica, porém a adição de materiais antagonistas pode ser benéfica. O antagonista é uma material que quando adicionado decrescerá ou antagonizará a toxicidade de outro material. Pouco é conhecido sobre como um antagonista trabalha, mas em alguns casos seu uso pode ser muito eficiente.

Um desequilíbrio da digestão anaeróbia (acidogênese/metanogênese) pode ocasionar produção de ácidos em excesso. Esse efeito pode ser mascarado pelo pH caso haja no sistema alcalinidade suficiente para neutralizar os ácidos. Acreditava-se que nos sistemas de tratamento de águas residuárias contendo elevadas concentrações de cloretos de sódio, de potássio e de magnésio, a toxicidade observada era causada pelos ácidos voláteis produzidos. No entanto, McCARTY e McKINNEY (1961) demonstraram que a toxicidade nesses sistemas está relacionada com o cátion dos sais (sódio, potássio e magnésio). Os ânions apresentaram efeitos relativamente menores e associados a propriedades como o pH do meio.

Os experimentos realizados por KUGELMAN e McCARTY (1965) indicaram que o potássio em concentrações de 78 a 2.350  $\text{mg.l}^{-1}$ , foi capaz de antagonizar a inibição pelo sódio em concentrações de 6.900 a 9.200  $\text{mg.l}^{-1}$ . Entretanto, a combinação de potássio e cálcio aumentou o antagonismo em relação ao potássio isoladamente, em concentrações de 10.350  $\text{mg.l}^{-1}$ , 400  $\text{mg.l}^{-1}$  e 200  $\text{mg.l}^{-1}$  para o sódio, potássio e cálcio, respectivamente. A pesquisa realizada mostrou o fenômeno do antagonismo secundário, ou seja, o cálcio foi capaz de antagonizar o sódio quando o potássio, antagonista primário, estava presente.

Os autores citados acima utilizaram efluente sintético com 2.000  $\text{mg.l}^{-1}$  de acetato para simulação de sobrecarga de ácidos em três reatores: o primeiro continha apenas acetato (controle), o segundo, acetato e 2.370  $\text{mg.l}^{-1}$  de NaCl (para verificação do efeito tóxico do sódio) e o terceiro, acetato, 2.370  $\text{mg.l}^{-1}$  de NaCl e 2.370  $\text{mg.l}^{-1}$  de  $\text{CaCl}_2$  (para verificação da capacidade antagonística do cálcio sobre o sódio). Quando apenas cloreto de sódio foi utilizado, a eficiência do reator foi insatisfatória (utilização de 1.700  $\text{mg.l}^{-1}$  de ácido acético em 9 dias). No entanto, o antagonismo do cálcio sobre a ação tóxica do sódio foi bastante significativa (utilização de 2.000  $\text{mg.l}^{-1}$  de ácido



acético em 3 dias) e o desempenho do sistema foi praticamente igual ao do controle (utilização de 2.000 mg. $l^{-1}$  de ácido acético em 2 dias).

McCARTY e McKINNEY (1961) comprovaram que a toxicidade resultante da adição de 3.500 mg. $l^{-1}$  de sódio poderia ser antagonizada por outra adição de 500 a 1.000 mg. $l^{-1}$  de magnésio ou cálcio.

SPEECE (1996) indica a possibilidade de utilização de compostos químicos, como betaína, metais alcalinos e alcalinos-terrosos (grupo 1A e 2A da tabela periódica) como antagonizantes do efeito inibitório do sódio para adaptação da biomassa nos processos biológicos de tratamento de águas residuárias com elevado teor de sódio.

Uma forma de minimizar a toxicidade do sódio reside na utilização de solutos compatíveis, definidos como compostos que podem ser acumulados intracelularmente, em altas concentrações, sem interferir no metabolismo normal da célula. Dessa forma, esses compostos regulam a pressão osmótica causada pela presença do sal.

YERKES *et al.* (1997) utilizaram dois reatores em batelada, um enriquecido com cultura de *Methanosarcina sp.* e o outro com *Methanosaeta sp.*, nos quais se investigou a adição de soluto compatível (betaína) para antagonizar os efeitos da toxicidade do sódio. Concentrações de betaína tão baixas quanto 1 mM ( $\sim 87$  mg. $l^{-1}$ ) se mostraram eficientes para redução da fase Lag (início da produção de metano) e do tempo necessário para produção máxima de gás. O soluto betaína, também conhecido como glicina-betaína, é encontrado na seiva da beterraba.

O efeito da betaína sobre um consórcio fermentativo foi estudado em reator de leiteo fluidizado por YERKES *et al.* (1997). A sacarose, substrato primário, foi quebrada em açúcares simples e ácidos graxos voláteis. A elevação da concentração de sódio a 500 mM (11.500 mg. $l^{-1}$ ) causou aumento na produção dos ácidos acético e propiônico, além de mudança no pH do reator e na produção de gás. A concentração máxima de ácido propiônico foi aproximadamente uma ordem de magnitude maior que de ácido acético, o que indicou que o consumo do propionato foi a etapa limitante sob condições de toxicidade do sódio. Contudo, não foi observado aumento nas concentrações de ácidos voláteis nos reatores que receberam 10 mM ( $\sim 870$  mg. $l^{-1}$ ) de betaína.

De acordo com WILLETS (1999), um potencial antagonista para a toxicidade do sódio identificado na literatura é a betaína que foi testada por ser capaz de aliviar a inibição devido ao sódio.

No geral, solutos compatíveis são moléculas extremamente solúveis que não possuem carga elétrica e, em pH fisiológico, são acumulados em altas concentrações



intracelulares sem romper processos celulares vitais, como conservação do DNA, interações DNA-proteína, e o maquinário metabólico da célula. Além disso, solutos compatíveis funcionam como efetivos estabilizadores das funções enzimáticas, promovendo proteção contra salinidade, altas temperaturas, congelamento e até ressecamento.

Os solutos compatíveis funcionam como reguladores osmóticos nas células. Os microrganismos freqüentemente acumulam solutos e com isso diminuiu o potencial osmótico do citoplasma, aumentando as contribuições para restauração e manutenção da turgescência. Esta ocorre quando o citoplasma se torna hipertônico em relação ao meio através do acúmulo de solutos para evitar a dessecação da célula. Segundo CAYLEY *et al.* (1992)<sup>2</sup> apud. KEMPT e BREMER (1998), os solutos compatíveis como a glicina-betaína aumentam o volume citoplasmático e a água livre contida na célula à alta osmolaridade. Essa acumulação permite a contínua proliferação da célula em condições desfavoráveis, uma vez que a turgescência é um dos responsáveis pelo crescimento e divisão celular. Outra função é que os solutos compatíveis também servem como estabilizadores das proteínas e dos componentes celulares, evitando efeitos da desnaturação por forças iônicas elevadas. Os autores ainda relatam que essa propriedade protetora ainda não é completamente explicada, mas que os osmoprotetores promovem a hidratação das proteínas.

O efeito da elevada concentração de Na<sup>+</sup> sobre o tratamento anaeróbio foi avaliado por SHIPIN *et al.*, (1994)<sup>3</sup> apud SPEECE (1996). Os autores concluíram que, sob elevada salinidade, a metanogênese foi a etapa mais prejudicada, sendo a etapa limitante do processo de degradação. No entanto, para biomassa pré-adaptada os autores sugerem que o efeito bacteriostático foi maior que o efeito bactericida do Na<sup>+</sup>. KUGELMAN e MCCARTY (1965) também observam que os organismos metanogênicos são mais sensíveis aos efeitos tóxicos dos cátions do que os organismos acidogênicos.

Em geral, a concentração máxima de Na<sup>+</sup> que pode ser aplicada aos processos anaeróbios é de 10.000 mg.l<sup>-1</sup>. No entanto, de acordo com SPEECE (1996), concentrações maiores podem ser atingidas, caso a biomassa seja submetida a processo

---

<sup>2</sup> CAYLEY, S., *et al.* (1992) Origins of the osmoprotective properties of betaine and proline in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.* 174, pp1586-1595.

<sup>3</sup> SHIPIN, O.V., K. M. Dunn, V. Y. Shipin, and P. D. Rose, Saline Anaerobic Digestion in Advanced Algal High Rate Oxidation Ponding for the Treatment of Organics in Saline Effluents, Proc. 7 th International Symposia on Anaerobic Digestion – South Africa, p. 397, 1994.

de adaptação, por meio de aumento gradativo da concentração de  $\text{Na}^+$ . Isto está de acordo com DE BAERE *et al.* (1984) que afirmaram que a adaptação para o aumento gradativo de NaCl afetou significativamente a tolerância da associação da metanogênese quando comparada com a adição única de NaCl.

Os estudos citados indicam que a digestão anaeróbia associada à utilização de antagonizantes apresenta-se como tecnologia alternativa para tratamento de águas residuárias com alto teor de salinidade.

### **3.4 - Características de organismos que sobrevivem em altas concentrações de NaCl**

As bactérias halofílicas são conhecidas por requererem uma grande quantidade de cloreto de sódio. Os sistemas de transporte ativos através de membranas transportam os íons de sódio fora das células e concentram íons de potássio dentro dela. São duas as possíveis explicações do motivo pelo quais as halofílicas requerem sódio: uma é que as células necessitam de sódio para manter a concentração alta de potássio intracelular e então suas enzimas funcionarão; a outra é que elas necessitam de sódio para manter a integridade de suas paredes celulares (BLACK, 1999).

SLEATOR e HILL (2001) relataram que, para combater o problema do excesso de sal, as halobactérias mantêm o equilíbrio osmótico de uma concentração salina citoplasmática (KCl) similar à da solução em que estão imersas. Como conseqüência, o citoplasma exposto a elevadas forças iônicas requer diversas adaptações estruturais. Esses autores observaram que, para conseguir tolerância salina, as proteínas de halobactérias sofrem extensivas substituições de aminoácidos envolvendo enriquecimento de aspartina, glutamina e resíduos hidrofóbicos.

Para SLEATOR e HILL (2001), os organismos que exibem sal no mecanismo citoplasmático de osmo-adaptação, como as halofílicas, são estritamente restritos a ambientes com elevada osmolaridade. Em contraste, todos os outros organismos (não halofílicos) possuem uma estratégia adaptativa que tem como característica principal, uma necessidade mínima de mudanças genéticas e um alto grau de flexibilidade, permitindo que tais organismos se adaptem a flutuações significativas na osmolaridade externa. Essa pode ser uma estratégia de vários microrganismos quando não possui algum regulador osmótico para balancear a pressão osmótica exercida pela elevada salinidade.



POOLMAN *et al.* (1998) observaram que para as células sobreviverem ao stress osmótico, necessitam acumular específicos solutos compatíveis quando sujeitas a condições hiperosmóticas. Os solutos podem ser: potássio, aminoácidos (glutamato e prolina), derivados de aminoácidos, amina quaternária (glicina-betaína, carnitina) e açúcar (sacarose).

A Tabela 3.2 apresenta os principais solutos compatíveis acumulados nas Arqueas e Bactérias. A diversidade microbiana do inóculo apresenta certamente alguns dos microrganismos citados, podendo estes necessitar dos solutos apresentados.

**Tabela 3.2 - Microrganismo x soluto compatível acumulado**

Microrganismo	Solute compatível acumulado
Bactérias não-fototrófica	glicina-betaína, prolina (principalmente em gram-positiva), glutamato (principalmente gram-negativa)
Cyanobacteria de água salgada	glicina-betaína
<i>Archeas</i> halófilas extremas (por exemplo <i>Halobacterium</i> ) e algumas bactérias	KCl

**Fonte:** MADIGAN *et al.*(1997).

### 3.5 - Considerações finais

A literatura revisada sobre água residuária com elevada concentração de matéria orgânica e cloreto de sódio informa sobre a possibilidade de utilização de sistemas anaeróbios de tratamento como reator de leito fixo e reator de manta de lodo (UASB). A ausência de relatos científicos sobre a utilização de sistemas anaeróbios de tratamento de águas residuárias de indústria de Charque, o longo período de partida, além da dificuldade de atingir a estabilidade em reatores de manta de lodo em escala real motivaram este estudo.

É evidente que a utilização de uma cultura adaptada para o tratamento de águas residuárias com alta concentração de sódio poderia ser mais eficiente, mas, do ponto de vista prático, o tempo necessário para adaptar esta cultura poderia ser muito grande. Então, o uso de antagonizantes para minimizar os efeitos deletérios do sódio teve como objetivo acelerar o processo de partida e melhorar a estabilidade do sistema em trabalhos revisados. A utilização de cálcio e potássio como antagonizantes foi estudada

por KUGELMAN e McCARTY (1965) que obtiveram resultados satisfatórios na minimização dos efeitos tóxicos do sódio, utilizando ácido acético como único substrato. YERKES (1997) utilizou a betaína que se mostrou eficiente na toxicidade do cátion  $\text{Na}^+$  quando ácido acético foi a fonte de carbono empregada.



#### 4.- MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo, foram utilizados quatro reatores anaeróbios, alimentados com água residuária sintética que simulou efluente com alto teor de salinidade. O reator 1 foi operado como controle, na ausência de cloreto de sódio; o reator 2 recebeu cloreto de sódio e os reatores 3 e 4 receberam, além do substrato sintético e cloreto de sódio, betaína e potássio juntamente com cálcio, respectivamente, como antagonizantes.

A fonte de betaína utilizada foi cocoamidopropilbetaína e como fonte de potássio foi utilizado ácido acético juntamente com hidróxido de potássio formando acetato de potássio e para o cálcio utilizou-se ácido acético juntamente com hidróxido de cálcio formando acetato de cálcio.

##### 4.1- Reatores

Os reatores anaeróbios de manta de lodo e escoamento ascendente - UASB - (Figura 4.1) foram confeccionados em acrílico transparente, com 4,5 cm de diâmetro, 60,0 cm de altura, e volume útil de, aproximadamente, 1,0 litro. Os reatores foram mantidos em câmara climatizada com temperatura controlada em  $30^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  e submetidos a regime contínuo de alimentação. O dispositivo mais característico do reator UASB é o separador de fases (gás-líquido-sólido). Este separador encontra-se na parte superior do reator (Figura 4.2) e promove além da separação do gás, a sedimentação de sólidos que formam a manta de lodo, responsável pela atividade biológica do sistema.

A água residuária sintética que alimentou cada reator foi mantida em geladeira, em recipiente de 5 litros. Em seguida, o afluente foi recalado por meio de bomba peristáltica para um trocador de calor ( $30^{\circ}\text{C}$ ) antes de ser introduzido nos reatores. Foi utilizado um sistema de deslocamento líquido para medição da produção de gás, composto por erlenmeyer e proveta graduada. A Figura 4.3 apresenta o esquema do aparato experimental.

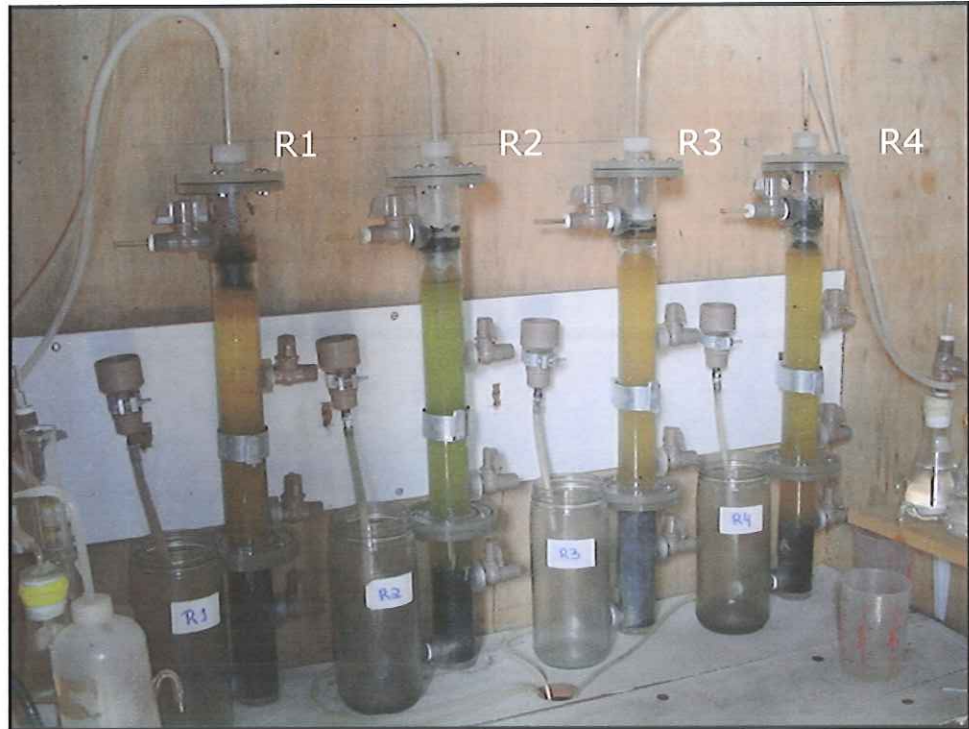


Figura 4.1 - Reatores UASB

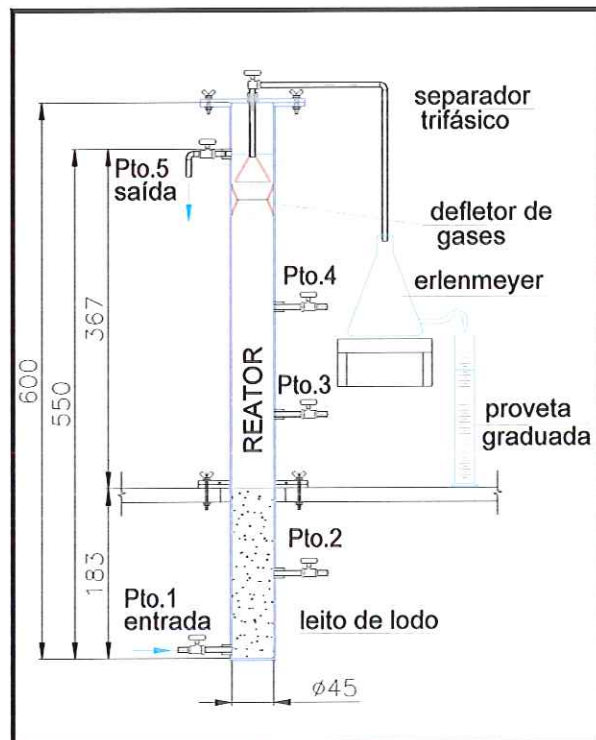


Figura 4.2 – Esquema do Reator UASB. Medidas em mm.

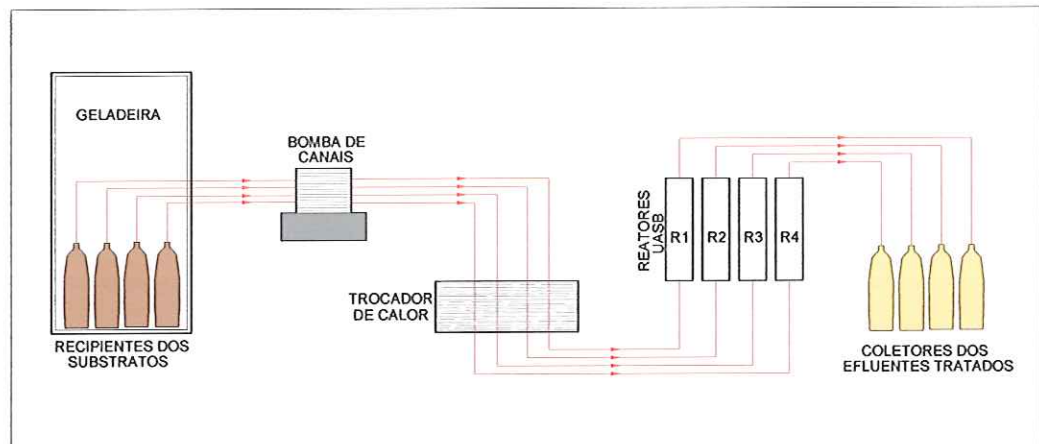


Figura 4.3 - Esquema do aparato experimental utilizado

#### 4.2 - Água residuária sintética

Visando simular as concentrações médias de matéria orgânica observadas em efluentes de charqueada, a água residuária sintética foi preparada de maneira a resultar em concentração de matéria orgânica de  $5.000 \text{ mg.l}^{-1}$ , expressa como DQO. A concentração de lipídeos, sais e solução tampão foram baseadas na composição de esgoto sanitário sintético, apresentada por TORRES (1992), e modificada, para as condições deste trabalho. A água residuária foi preparada com água da rede pública e acrescida dos compostos apresentados na Tabela 4.1 na fase zero (adaptação). Como os reatores não suportaram a carga inicial aplicada de  $5 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ , optou-se por reiniciar a operação dos quatro reatores com aumento gradativo de DQO de 500, 1.000, 1.500 e  $2.000 \text{ mg.l}^{-1}$ . Nesses casos, a composição da água residuária foi a mesma apresentada na Tabela 4.1, com redução proporcional das concentrações de matéria orgânica e nutrientes.

**Tabela 4.1** - Composição do esgoto sintético para DQO de 5000 mg.l<sup>-1</sup>

Composto	Concentração (mg.l <sup>-1</sup> )	DQO esperada (mg.l <sup>-1</sup> )
<b>Proteínas</b>		
Extrato de carne	3.744	4.500
<b>Lipídeos</b>		
Óleo de soja	510 (ou 0,056 mL)	500
<b>Sais</b>		
NaCl	250	
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	7	
CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	4,5	
<b>Tampão</b>		
NaHCO <sub>3</sub>	2.000	

Fonte: Adaptado de TORRES (1992)

### 4.3 –Inóculo

O inóculo utilizado foi obtido do reator UASB, tratando uma carga orgânica de 1,64 kg.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup> e sólidos voláteis totais de 36 mg.g<sup>-1</sup> de lodo, utilizado no tratamento de águas residuárias provenientes de um abatedouro de aves (Avícola Dacar Ltda), localizado no município de Tietê, SP. Esse inóculo foi escolhido por apresentar uma grande diversidade microbiana. Esta característica é essencial, pois confere ao lodo possibilidade de utilizá-lo como inóculo de outros reatores anaeróbios tratando diversos tipos de resíduos.

### 4.4 - Métodos analíticos

#### 4.4.1 - pH, DQO, sólidos, ácidos voláteis totais, alcalinidade, cloretos, sódio, potássio, cálcio, óleos e graxas, nitrogênio total, fósforo e composição de gás

Para avaliar o desempenho dos reatores foram monitoradas as variáveis



apresentadas na Tabela 4.2.

As concentrações de sólidos, pH, DQO, ácidos voláteis, alcalinidade (total e a bicarbonato), cloretos, nitrogênio, óleos e graxas e cálcio foram determinadas seguindo o Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (1998). A concentração de fósforo foi obtida através da metodologia de MENZEL e CORWIN (1965). A concentração de sódio e potássio foi determinada pelo método Fotometria de Chama e a composição de gás foi determinada utilizando-se cromatógrafo Gow-Mac com coluna Porapaq Q e usando hidrogênio como gás de arraste.

**Tabela 4.2 - Parâmetros, métodos e frequência das análises**

Parâmetro	Método	Frequência	Pontos de coleta
pH	Potenciométrico	2 x semana	Af. e Ef.
DQO Bruta	Espectrofotométrico	2 x semana	Af. e Ef.
Ácidos Voláteis	Titulométrico	2 x semana	Af. e Ef.
Alcalinidade	Titulométrico	2 x semana	Af. e Ef.
Sólidos Suspensos Voláteis	Gravimétrico	Semanal	Af. e Ef.
Cloretos	Mercuric Thiocynate	A cada fase	Af. e Ef.
Sódio	Fotometria de chama	A cada fase	Af. e Ef.
Potássio	Fotometria de chama	1 x	Substrato
Cálcio	Espectrofotométrico	1 x	Substrato
Óleos e Graxas	Extração Soxhlet	1 x	Substrato
Nitrogênio Total	Macro-Kjeldahl	2 x	Substrato
Fósforo	Menzel e Corwin	1 x	Substrato
Composição de Gás	Cromatografia gasosa	1x semana	Substrato

Af = afluente, Ef= efluente

#### 4.4.2 - Exames microbiológicos

A caracterização microbiana foi realizada por microscopia óptica de contraste de fase, epifluorescência e eletrônica de varredura (MEV), ao longo de cada fase para os quatro reatores. A diversidade da comunidade microbiana foi verificada através da

técnica de hibridação *in situ* (FISH), determinando-se a porcentagem de indivíduos para o Domínio *Bactéria* e Domínio *Archaea*.

A diversidade morfológica da biomassa do reator UASB operando efluente da indústria de Charque foi avaliada através da microscopia óptica de contraste de fase e epifluorescência.

Para microscopia óptica, foi utilizado microscópio Leica, modelo BM LB, com câmera acoplada para captura de imagem (Optronics), e software *Image Pro Plus* versão 3.0.1. As lâminas usadas para observação em microscópio óptico foram preparadas com Agar em solução de 2% (VAZOLLER<sup>4</sup> 1995, apud HIRASAWA, 2003).

Para análise sob MEV a preparação das amostras foi feita segundo NATION (1983) adaptado por Araújo (1994) observadas em microscópio eletrônico de varredura Zeiss DSM-960 do Instituto de Física de São Carlos. A metodologia consistiu em fixar a amostras em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,3) contendo 2,5% de glutaraldeído por 12 horas a 4°C. Em seguida, as amostras foram lavadas três vezes com solução tampão fosfato 0,1 M (pH 7,3) durante dez minutos e desidratadas em serie gradativa de etanol (50%, 70%, 80% e 90%), durante dez minutos cada. Posteriormente foram lavadas três vezes em etanol 100% por dez minutos e imersas em HDMS (hexametildisilazano, Sigma) por 30 segundos. Após a secagem em estufa por duas horas a 30°C, as amostras foram coladas em suportes metalizadas com o pó de ouro.

O desprendimento celular para preparação das lâminas para observação em microscópio ótico foi feito com grânulos de lodo previamente macerado em almofariz e agitado durante 20 minutos em frasco de antibiótico com pérolas de vidro, submetido a atmosfera de N<sub>2</sub> (100%), utilizado para manutenção da anaerobiose.

A técnica FISH permitiu detectar as seqüências de ácidos nucleicos, usando sonda marcada com corante fluorescente, que hibrida especificamente à sua seqüência alvo complementar no interior da célula íntegra, podendo assim identificar as células microbianas. A molécula alvo mais comumente usada para FISH é o RNAr 16S devido a sua estabilidade genética, sua estrutura de domínio com regiões conservadas e variáveis e seu alto número de cópias, facilitando a precisão na identificação de muitos

---

<sup>4</sup> VAZOLLER, R.F. (1995). Avaliação do ecossistema microbiano de um biodigestor anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, operando vinhaça sob condições termofílicas. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

microrganismos. O microscópio utilizado foi OLYMPUS BX60, com câmera acoplada Evolution QE monochrome (Media Cybernetics).

As sondas de oligonucleotídeos usadas para FISH (Ultra Chem Scientific Product) foram ARC915 (Domínio *Archea*; Sthal & Amann, 1991) e EUB338 (Domínio *Bactéria* Amann *et al.*, 1990). O protocolo usado para hibridação fluorescente *in situ* foi descrito por ARAUJO (2001).

Segundo RASKIN *et al.* (1994), a soma das porcentagens das células pertencentes aos Domínios *Archea*, *Bacteria* e *Eukarya*, hibridadas com as sondas ARC915, EUB338 e EUK516, respectivamente, deve ser igual a 100%. Contudo, neste experimento somente foram utilizadas apenas as sondas ARC915 e EUB338, ou seja, a somatória das porcentagens de células hibridadas com as duas sondas deveria ser igual a 100%, uma vez que os organismos eucariotos não estavam presentes no inóculo.

Foram realizadas as medidas do tamanho dos grânulos através do microscópio óptico Olympus BX 60, utilizado para análise do FISH. Cada grânulo do inóculo foi fotografado individualmente, num total de 100 grânulos, e foram medidas a largura e altura dos mesmos. As médias e áreas transversais foram calculadas com auxílio do software *Image Pro Plus* versão 3.0.1. Foram também medidos 250 grânulos de cada reator, na última fase de operação. Durante as demais fases do experimento optou-se por não retirar biomassa para essa análise, para evitar que o reator perdesse a estabilidade pela diminuição da manta de lodo.

#### 4.5 - Procedimento experimental

O protocolo experimental adotado constou de seis fases, mais uma fase inicial com alta carga orgânica, denominada fase zero. Em todas as fases os reatores foram operados com tempo de detenção hidráulica de 24 horas, valor compatível com UASB utilizado para tratamento de água residuária de charqueada, com temperatura de 30°C. A mesma água residuária sintética foi utilizada em todos os experimentos.

As fases operacionais são descritas a seguir e na Tabela 4.3:



**- FASE ZERO: Adaptação da biomassa com DQO = 5.000 mg.l<sup>-1</sup>**

Nesta fase, os quatro reatores foram inoculados com 0,32 l de lodo granular (33,3% do volume do reator) e alimentados com, aproximadamente, 1,0 l por dia do substrato sintético (Tabela 4.1).

**- 1ª FASE: Adaptação da biomassa com DQO = 500 a 2.000 mg.l<sup>-1</sup>**

Reiniciou-se a operação dos quatro reatores que foram reinoculados com 0,32 l de lodo granular e alimentados gradativamente com DQO de 500 mg.l<sup>-1</sup>, 1.000 mg.l<sup>-1</sup>, 1.500 mg.l<sup>-1</sup> e 2.000 mg.l<sup>-1</sup>. O sistema foi considerado adaptado quando não foram observadas variações significativas nos valores de DQO efluentes.

**- 2ª a 6ª FASE: Introdução gradativa de cloreto de sódio e de antagonizantes**

Nestas fases, cloreto de sódio foi introduzido no substrato que alimentou os reatores 2, 3 e 4. Além do substrato, os reatores 3 e 4 receberam os antagonizantes betaína e potássio mais cálcio, respectivamente. A concentração inicial de cloreto de sódio foi igual a 1.500 mg.l<sup>-1</sup> (aproximadamente 900 mg.l<sup>-1</sup> de cloretos e 600 mg.l<sup>-1</sup> de sódio). O reator 1 não recebeu cloreto de sódio, pois foi utilizado como controle. O reator 2 também foi utilizado como controle em relação aos efeitos antagonizantes, recebendo apenas o cloreto de sódio.

As concentrações de betaína apresentadas na Tabela 4.3 foram estabelecidas com base no trabalho experimental desenvolvido por YERKES *et al.* (1997), em que os autores obtiveram que para concentração de sódio de 500 mM (11.500 mg.l<sup>-1</sup>), o melhor desempenho foi obtido para concentração de betaína de 10 mM (1.170 mg.l<sup>-1</sup>). As concentrações iniciais de potássio e cálcio foram estabelecidas de acordo com o experimento de KUGELMAN & McCARTY (1965) que foram iguais a 24 mg.l<sup>-1</sup> e 12 mg.l<sup>-1</sup>, respectivamente. As concentrações de antagonizantes foram aumentadas gradativamente e são apresentadas na Tabela 4.3., na qual é apresentado o resumo do procedimento experimental.



Tabela 4.3 - Resumo do procedimento experimental

Reatores	Tipo de Alimentação	Concentrações (mg.l <sup>-1</sup> )						
		FASE 0	FASE 1 <sup>a</sup>	FASE 2 <sup>a</sup>	FASE 3 <sup>a</sup>	FASE 4 <sup>a</sup>	FASE 5 <sup>a</sup>	FASE 6 <sup>a</sup>
R1	DQO	500						
		5.000	a	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
R2	DQO	500						
		5.000	a	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
	NaCl Na <sup>+</sup> adicionado	-	-	1.500	3.000	6.000	9.000	13.500
				600	1.200	2.400	3.600	5.400
R3	DQO	500						
		5.000	a	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
	NaCl Na <sup>+</sup> adicionado	-	-	1.500	3.000	6.000	9.000	13.500
		-	-	600	1.200	2.400	3.600	5.400
Betaína	-	-	45	90	180	270	405	
R4	DQO	500						
		5.000	a	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
	NaCl Na <sup>+</sup> adicionado	-	-	1.500	3.000	6.000	9.000	13.500
		-	-	600	1.200	2.400	3.600	5.400
	Potássio	-	-	24	48	96	144	216
	Cálcio	-	-	12	24	48	96	144
DQO referente ao acetato	-	-	71,7	143,4	286,8	430,2	645,3	

## 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apresentam-se nesse item os resultados do desempenho dos quatro reatores com relação aos parâmetros utilizados no monitoramento, quais sejam: pH, Alcalinidade à Bicarbonato, Ácidos Voláteis, DQO Total, Sólidos Suspensos Voláteis, Nitrogênio total e amoniacal, Fósforo, Cálcio, Potássio, Sódio, Cloretos e Produção do Biogás. Para melhores esclarecimentos, a Tabela 5.1 resume o início da operação e dias de duração de cada fase do experimento.

**Tabela 5.1-** Resumo dos dias de início e duração do experimento

<b>FASES</b>	<b>Início do experimento (dias)</b>	<b>Duração (dias)</b>
Zero	1 <sup>a</sup>	60
Pausa*	61 <sup>a</sup>	23
1 <sup>a</sup>	84 <sup>a</sup>	64
2 <sup>a</sup>	148 <sup>a</sup>	16
3 <sup>a</sup>	164 <sup>a</sup>	19
4 <sup>a</sup>	183 <sup>a</sup>	22
5 <sup>a</sup>	205 <sup>a</sup>	35
6 <sup>a</sup>	240 <sup>a</sup>	45
		Total = 285

\* falência dos reatores

### 5.1 - Características do substrato sintético

As concentrações de Nitrogênio, Fósforo, Potássio, Cálcio, Sódio, Óleos e Graxas foram analisadas no substrato quando a DQO aplicada foi de 2.000 mg.l<sup>-1</sup> e cloreto de sódio não tinha sido adicionado ainda, ou seja, na **1<sup>a</sup> Fase** do experimento. Os resultados são apresentados na Tabela 5.2.

**Tabela 5.2** - Concentrações de alguns parâmetros no substrato

Parâmetros	Concentrações (mg.l <sup>-1</sup> )
NTK	341
NH <sub>3</sub>	12
P	35
K <sup>+</sup>	143
Na <sup>+</sup>	184
Ca <sup>++</sup>	5,3
OG	61

De acordo com LETTINGA<sup>5</sup> *et al.* (1996) apud CHERNICHARO (1996), os nutrientes presentes em esgoto sanitário poderiam ser suficientes para os microrganismos anaeróbios se a relação de DQO:nitrogênio:fósforo fosse de 1000:5:1. Baseada nessa analogia, a relação para o substrato sintético utilizado nesse experimento para os parâmetros citados é de 1000:171:17. Portanto, acredita-se que a exigência mínima necessária para o desenvolvimento adequado dos microrganismos anaeróbios foi satisfatória. Os elementos potássio, cálcio e sódio possuem concentrações que podem ter interferido no fenômeno de antagonismo ou sinergismo, principalmente o potássio que teve concentração de 143 mg.l<sup>-1</sup>. O teor de óleos e graxas foi relativamente baixo, com valor de 61 mg.l<sup>-1</sup>.

## 5.2 - Fase Zero

Observa-se na Figura 5.1, para os quatro reatores na fase zero do experimento, que o pH afluente variou de 7,0 a 7,9, enquanto que o efluente apresentou valores de 8,0 a 8,9 como demonstra a Figura 5.2.

<sup>5</sup> LETTINGA, G., HULSHOFPOL, P. W., ZEEMAN, G. (1996) Biological Wastewater Treatment. Part I: Anaerobic Wastewater treatment. Lecture Notes. Wageningen Agricultural University, ed. January

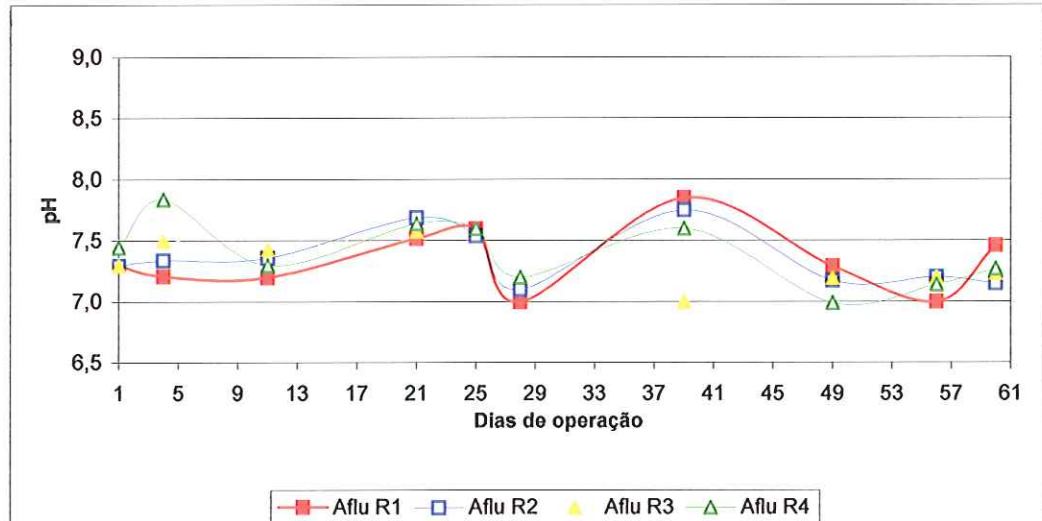


Figura 5.1 - pH afluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4, para fase zero

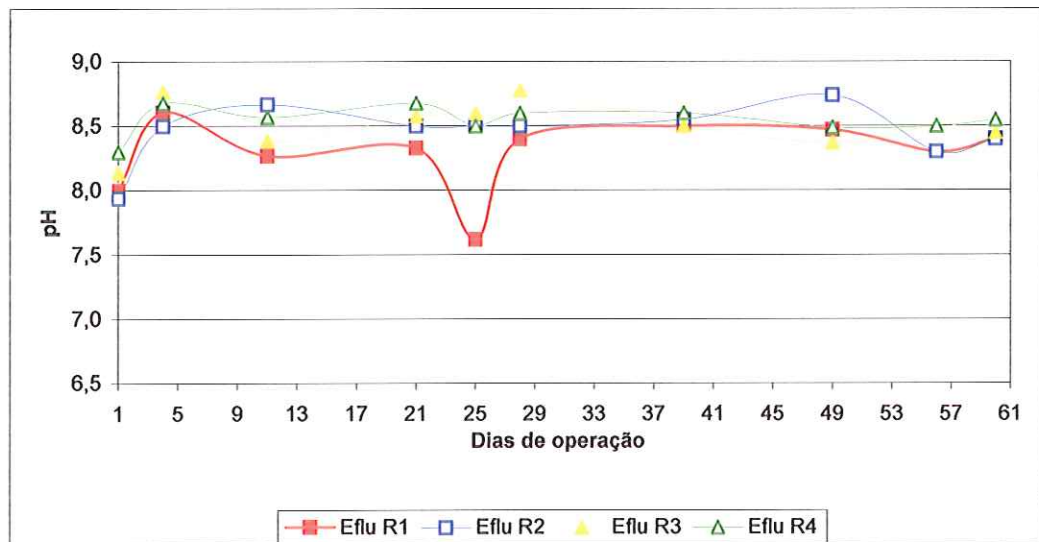


Figura 5.2 - pH efluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4, para fase zero

A alcalinidade a bicarbonato média afluente, nesta fase, foi de  $1360 \text{ mg.l}^{-1}$ ,  $1385 \text{ mg.l}^{-1}$ ,  $1369 \text{ mg.l}^{-1}$ ,  $1332 \text{ mg.l}^{-1}$  para os reatores 1, 2, 3 e 4, respectivamente, como apresenta a Figura 5.3. A alcalinidade no efluente, Figura 5.4, foi muito superior à observada no afluente para todos os reatores. Isto pode indicar que a falência dos quatro reatores nesta fase não foi devido à falta de alcalinidade do meio que foi mantida em níveis considerados seguros.



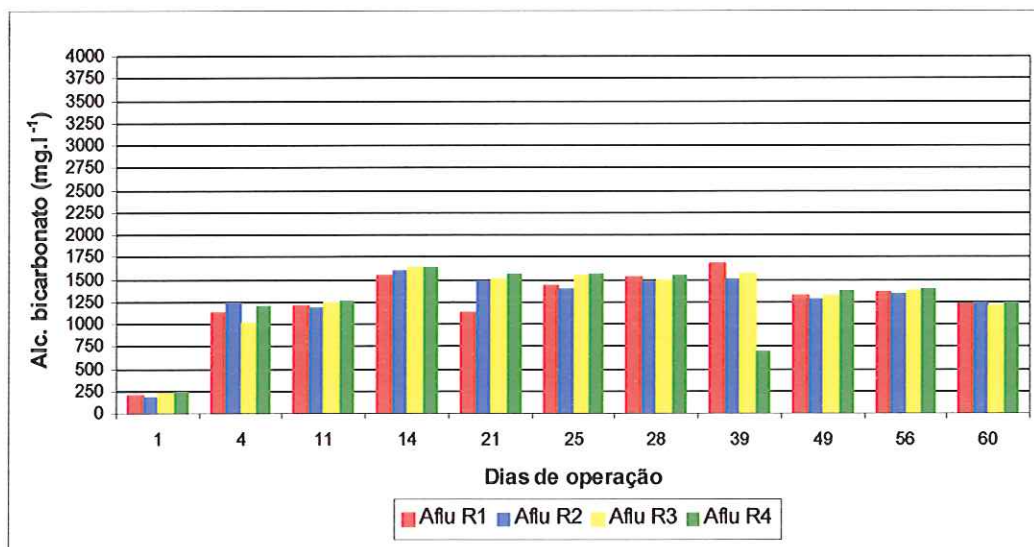


Figura 5.3 - Alcalinidade a bicarbonato afluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4 na fase zero

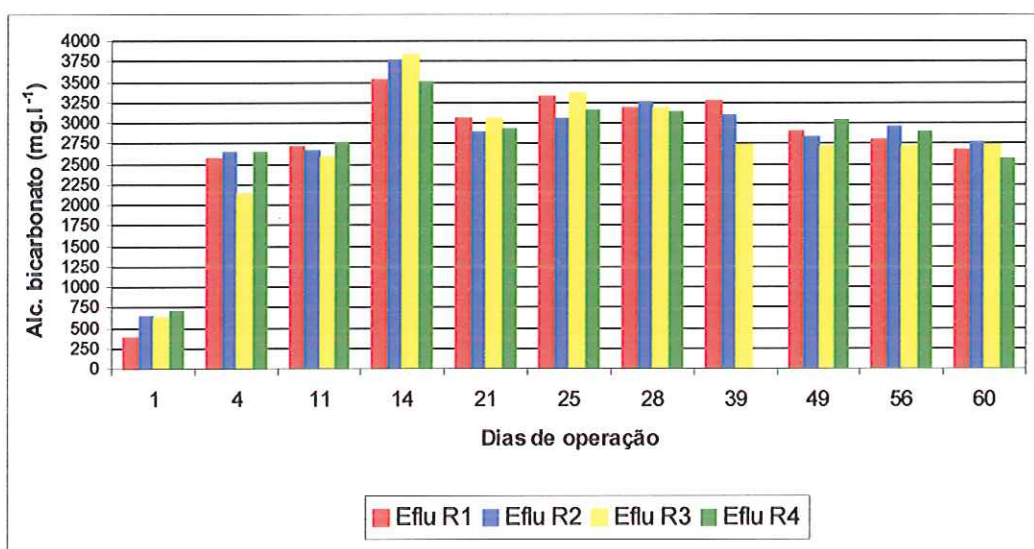


Figura 5.4 - Alcalinidade a bicarbonato efluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4 na fase zero

Os quatro reatores operaram com eficiência média de redução de DQO de 80% até o 25º dia. Após esse período, a concentração de ácidos voláteis totais no efluente aumentou significativamente (atingindo 2.055 mg HAc.l<sup>-1</sup>) como consequência do desbalanceamento entre acidogênese e metanogênese ao longo do tempo devido, principalmente, à alta carga orgânica à qual estavam submetidos os reatores.

Embora a alcalinidade estivesse alta, tentou-se recuperar os reatores, por meio da adição de bicarbonato de sódio, para a suplementação de alcalinidade. Foi observada

uma insignificante melhora e no 63º dia de operação os quatro reatores entraram em colapso. Acredita-se que a carga orgânica aplicada de  $5 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$  foi demasiadamente alta para a biomassa não adaptada, pois esta estava anteriormente submetida a carga orgânica de  $1,64 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$  na Avícola Dacar. A Figura 5.5 apresenta a queda da eficiência de remoção de DQO nesta fase para os quatro reatores (R1, R2, R3 e R4). Foram realizadas, nessa fase, análises de nitrogênio amoniacal no efluente de cada reator e os resultados foram de  $428 \text{ mg.l}^{-1}$ ,  $436 \text{ mg.l}^{-1}$ ,  $421 \text{ mg.l}^{-1}$  e  $395 \text{ mg.l}^{-1}$  para R1, R2, R3 e R4, respectivamente. Esses valores são relativamente baixos para inibir o processo anaeróbio.

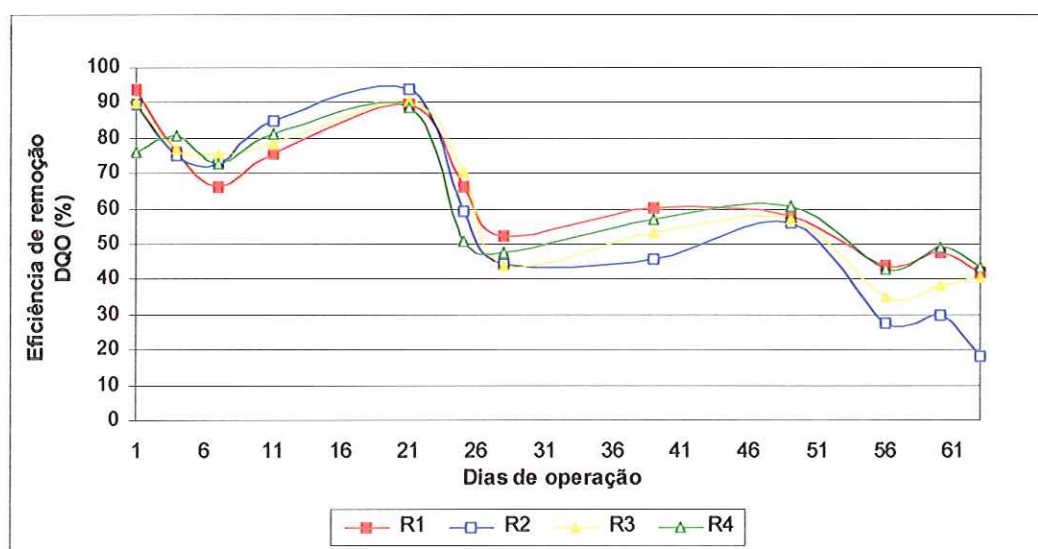


Figura 5.5 - Eficiência de remoção de DQO para os Reatores 1, 2, 3 e 4, na fase zero

### 5.3 - 1ª a 6ª Fase

Na 1ª fase, os reatores foram reinoculados com lodo granular e submetidos a aumento gradativo de carga orgânica de  $0,5$  a  $2,0 \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ , para adaptação da biomassa. Optou-se em dar continuidade ao experimento com DQO máxima de  $2.000 \text{ mg.l}^{-1}$ , pois com cargas mais altas os reatores poderiam entrar em colapso novamente. A seguir são apresentados os resultados de pH, alcalinidade a bicarbonato, DQO, ácidos voláteis, sólidos suspensos, cloretos e sódio para os quatro reatores nas seis fases do experimento.

Pode-se observar, nas Figuras 5.6 e 5.7, para os quatro reatores da 1ª a 4ª fase do experimento, que o pH médio afluente variou em torno  $7,5$  e o pH efluente variou de  $7,8$

a 8,8. Para a **5ª e 6ª fase**, o pH afluente variou de 6,5 a 8,3. O motivo de o pH encontrar-se baixo foi devido ao ácido adicionado no reator 4. O pH efluente atingiu valores de 7,6 até 8,9 como demonstra a Figura 5.7. Este pH acima de 8,3 pode inibir as bactérias formadoras de metano (CHERNICHARO, 1997). Porém, o reator 1 (controle) manteve-se com eficiências acima de 80% em termos de remoção de DQO mesmo com pH acima de 8,3, indicando que o tipo de substrato e características dos microrganismos podem ter colaborado para a estabilidade dos reatores.

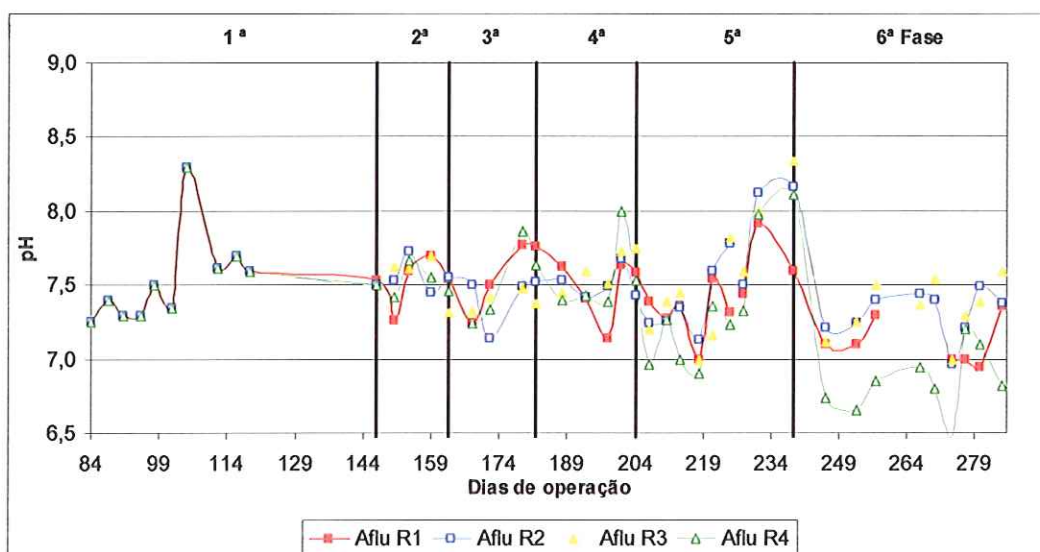


Figura 5.6 - pH afluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4 da 1ª a 6ª fase.

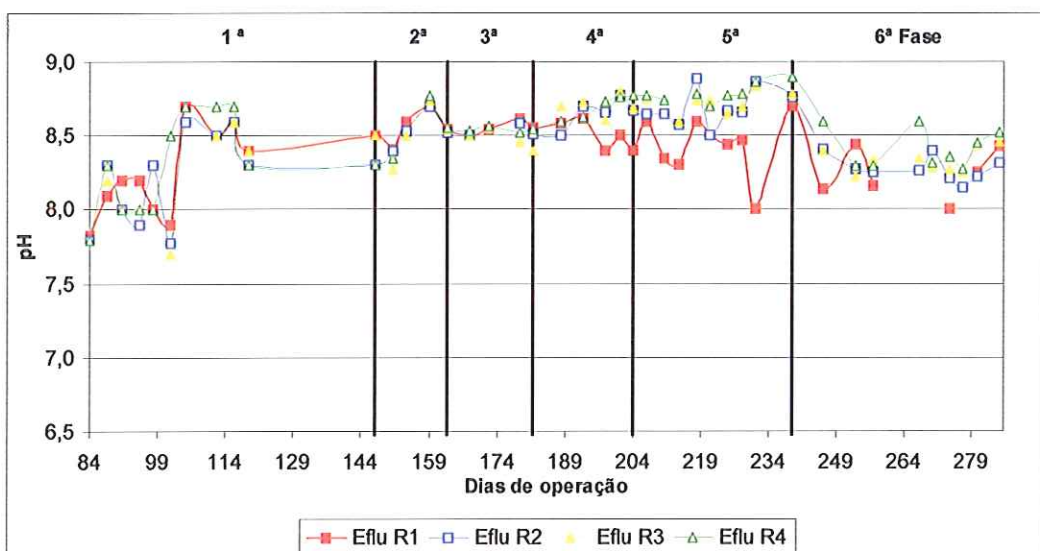


Figura 5.7 - pH efluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4 da 1ª a 6ª fase.



As Figuras 5.8 e 5.9 apresentam a alcalinidade a bicarbonato afluente e efluente dos quatro reatores da 1ª a 6ª fase. Pode-se observar que a alcalinidade gerada proporcionou capacidade suficiente de tamponamento para neutralizar os ácidos formados no processo.

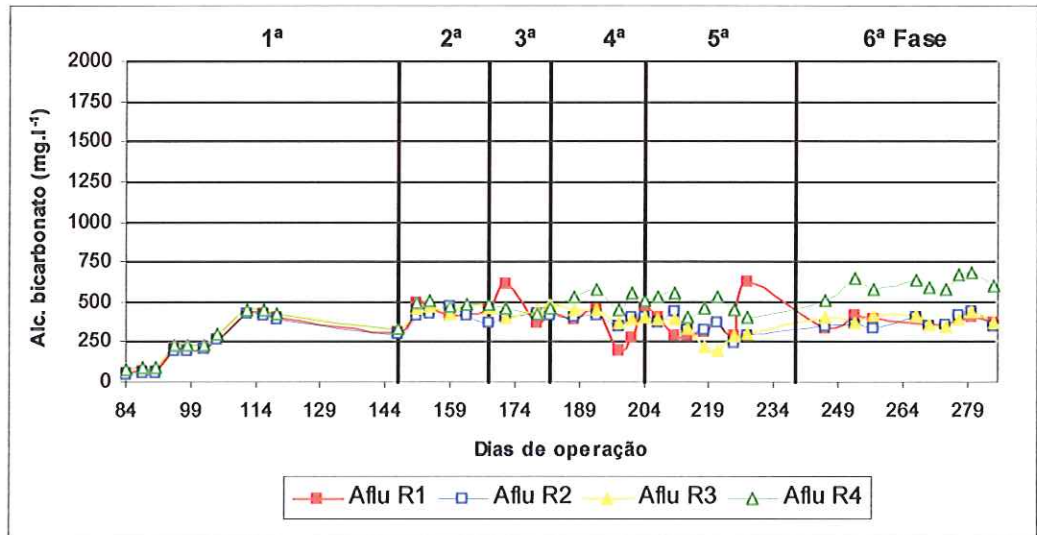


Figura 5.8 - Alcalinidade a bicarbonato afluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4 da 1ª a 6ª fase.

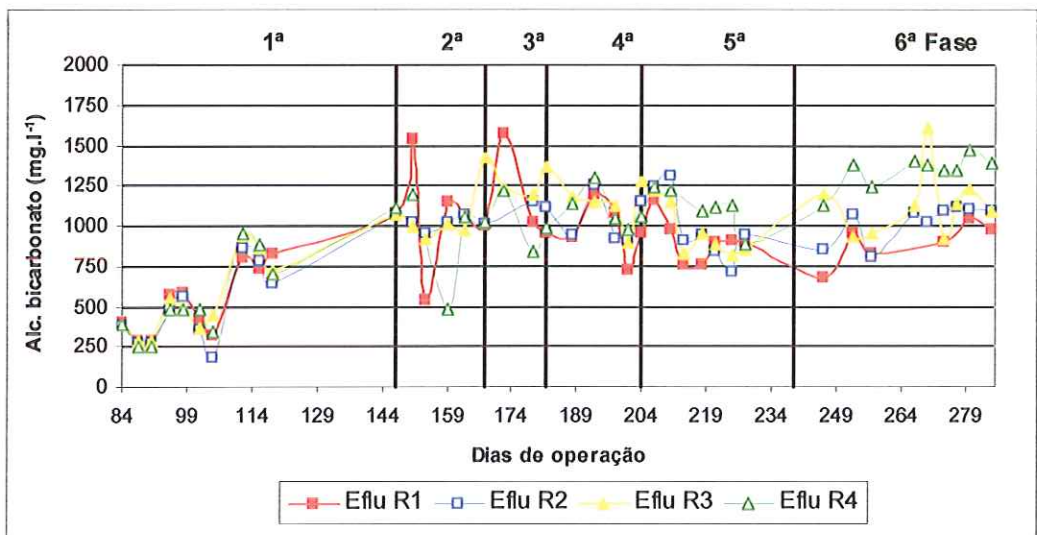


Figura 5.9- Alcalinidade a bicarbonato efluente aos Reatores 1, 2, 3 e 4 da 1ª a 6ª fase.

Na **1ª fase** do experimento, as médias da carga orgânica removida, em termos de DQO, foram equivalentes em todos os reatores (Figura 5.10), resultando em eficiências de aproximadamente 80% (Figura 5.11, 5.12, 5.13 e 5.14). Como visto anteriormente, verificou-se que alcalinidade a bicarbonato efluente manteve-se superior à do afluente, indicando processo anaeróbio estável. As concentrações de ácidos voláteis para os quatro reatores, apresentadas nas Figuras 5.15, 5.16, 5.17 e 5.18 demonstram que não houve acúmulo desses intermediários do processo da degradação anaeróbia.

Nas **2ª e 3ª fase** do experimento, a adição de cloreto de sódio foi de 1.500 mg.l<sup>-1</sup>, e 3.000 mg.l<sup>-1</sup>, respectivamente. Os reatores 3 e 4 foram submetidos à adição dos antagonizantes (Tabela 4.3). Nestas fases, embora pequenas oscilações tenham sido observadas nos valores de DQO afluente ao reator 2, é possível considerar que o comportamento de todos os reatores foi estável. As eficiências médias de remoção de DQO foram iguais a 86%, 81%, 77% e 80%, respectivamente, para os reatores 1, 2, 3 e 4. Na **2ª fase**, as concentrações médias de carga orgânica aplicada e removida, em termos de DQO, resultaram em valores bem próximos para os reatores 1, 2 e 3 (Figura 5.10). Em relação ao reator 4, pode-se observar que a média da carga orgânica aplicada é superior aos demais reatores, indicando que o acetato adicionado provocou aumento na DQO aplicada (Figura 5.10). Na **3ª fase** do experimento, a média da carga orgânica removida foi de 1.755 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, 1.429 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, 1.437 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, 1.416 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, respectivamente para os reatores 1, 2, 3 e 4. Estes valores permitem observar que, aparentemente, a concentração de cloreto de sódio aplicada até a **3ª fase** para os reatores 2, 3, e 4, não foi suficiente para inibir o processo anaeróbio de degradação da matéria orgânica. Por este motivo, os compostos utilizados como antagonizantes não foram capazes de proporcionar, até a **3ª fase**, melhora significativa no desempenho global do processo. A estabilidade observada nessas fases foi confirmada pelos baixos valores de ácidos voláteis presentes no efluente dos reatores (Figura 5.16, 5.17 e 5.18) e também pelas eficiências de remoção de DQO apresentada nas Figuras 5.12, 5.13 e 5.14.

Nas **4ª e 5ª fases**, com adição de cloreto de sódio de 6.000 mg.l<sup>-1</sup> e 9000 mg.l<sup>-1</sup>, respectivamente (reatores 2, 3 e 4) e de antagonizantes (reatores 3 e 4), começou a ser observado decréscimo na eficiência de remoção de DQO, principalmente nos reatores 2 e 3. Os valores médios observados foram iguais a 85%, 62%, 70% e 78%, respectivamente, para os reatores 1, 2, 3 e 4. No reator controle (reator 1) a estabilidade foi mantida, como era esperado. Esses resultados demonstram que a população



microbiana começou a ter sua atividade metabólica diminuída pela presença do cloreto de sódio e que os antagonizantes tiveram participação no processo, constatado pelo melhor desempenho dos reatores 3 e 4. Em relação ao reator controle, sem adição do sal, as perdas de eficiência provocadas pelo cloreto de sódio foram iguais a 23%, 12% e 7%, respectivamente, para os reatores 2, 3 e 4. Isto indica que a betaína foi capaz de antagonizar o efeito do sódio em 8% e a junção de potássio e cálcio, antagonizaram em 16%. Contudo, pode-se observar na 5ª fase, as médias de carga orgânica aplicada foram de 1.818 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, 1.926 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, 2.372 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup> e 2.290 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, respectivamente, para os reatores 1, 2, 3 e 4. Em relação as médias de carga orgânica removida, apresentadas na Figura 5.10, estas foram de 1.526 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, 1.087 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, 1.568 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup> e 1.729 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, respectivamente, para os reatores 1, 2, 3 e 4, indicando que os reatores 1 e 3 atingiram cargas removidas bem próximas, porém, a carga aplicada para o reator 3 foi superior em 23% em relação ao reator 1. Contudo, Porém, o reator 2 apresentou queda no valor da DQO removida em aproximadamente 30% em relação ao reator controle, e o reator 4 apresentou 12% a mais da carga orgânica removida quando comparado ao reator 1. Isso pode ser um indicativo que a adição de acetato favoreceu as metanogênicas acetoclásticas, pois as mesmas utilizam como substrato o ácido acético para produção de metano.

A 6ª fase foi iniciada com 13.500 mg.l<sup>-1</sup> de NaCl. Os reatores 2, 3 e 4 apresentaram tendência de perda significativa de eficiência (Figuras 5.12, 5.13 e 5.14), sendo menos representativa para o reator 4. As médias de carga orgânica aplicada, em termos de DQO, apresentadas pela Figura 5.10 foram de 1.864 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, 1.676 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, 2.374 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup> e 2.529 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, para os reatores 1, 2, 3 e 4. Em relação as médias de carga orgânica removida, estas foram de 1.522 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, 741 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, 1.189 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup> e 1.360 g DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, para os reatores 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Pode-se observar que os reatores 2, 3 e 4 apresentaram queda na carga orgânica média removida em relação ao reator controle de 51%, 22% e 10%, respectivamente. Isto pode ser um indicativo de que os reatores se aproximaram da capacidade máxima em suportar o sal.

Não foram apresentados dados da DQO filtrada, pois essa se mostrou com valores bem próximos à DQO de amostras brutas. Essa afirmação pode ser confirmada pelos resultados dos sólidos suspensos voláteis, apresentados posteriormente.

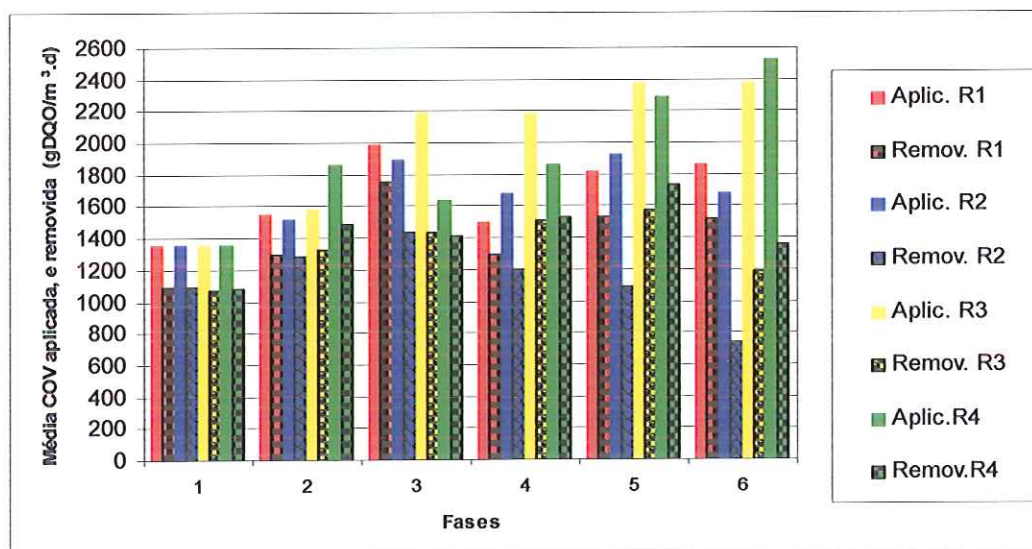
As concentrações médias de ácidos voláteis no afluente variaram de 202 mg.l<sup>-1</sup> a 517 mg.l<sup>-1</sup> nos reatores 1, 2 e 3 para as seis fases do experimento. No entanto, o reator 4



apresentou concentrações médias desses ácidos de  $202 \text{ mg.l}^{-1}$  a  $1.106 \text{ mg.l}^{-1}$ . É importante destacar que o reator suplementado com potássio juntamente com cálcio (reator 4 e Figura 5.18) foi submetido a um acréscimo significativo de ácido acético em seu afluente, quando comparado com os demais, em decorrência dos compostos químicos que foram utilizados como fontes de potássio (ácido acético juntamente com hidróxido de potássio formando acetato de potássio) e cálcio (ácido acético juntamente com hidróxido de cálcio formando acetato de cálcio).

Concentrações de ácidos voláteis totais no efluente variaram de  $67 \text{ mg.l}^{-1}$  a  $204 \text{ mg.l}^{-1}$  para o reator 1, de  $65 \text{ mg.l}^{-1}$  a  $358 \text{ mg.l}^{-1}$  para o reator 2, de  $63 \text{ mg.l}^{-1}$  a  $488 \text{ mg.l}^{-1}$  para o reator 3, e de  $68 \text{ mg.l}^{-1}$  a  $479 \text{ mg.l}^{-1}$  para o reator 4. Neste reator, aparentemente, os microrganismos consumidores de ácidos foram capazes de suportar a carga adicional de ácidos sem que qualquer comprometimento no comportamento do reator tenha sido observado. Isto indica que a população de arqueas metanogênicas parecia estar bem estabelecida neste reator.

As concentrações médias de ácidos no efluente foram aumentadas conforme a concentração de cloreto de sódio era acrescida, o que pode ser observado nas Figuras 5.12, 5.13 e 5.14. Conseqüentemente, o aumento na concentração de ácidos foi acompanhado pela perda na eficiência de remoção de DQO. Isto serve para comprovar que os reatores estavam respondendo negativamente ao aumento da concentração de cloreto de sódio.



**Figura 5.10** – Médias da carga orgânica volumétrica aplicada e removida para os Reatores 1, 2, 3 e 4 da 1ª a 6ª fase.

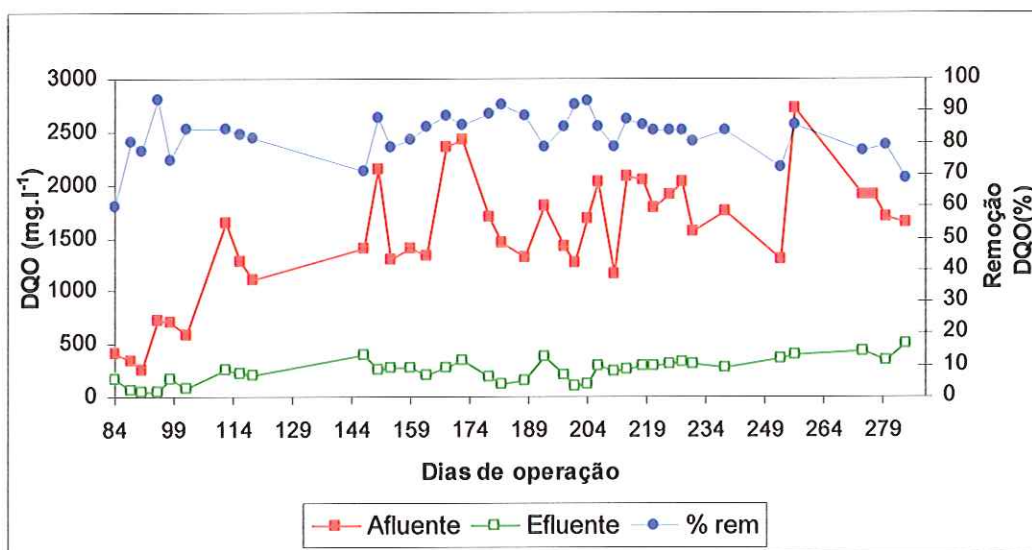


Figura 5.11 - DQO afluente, efluente e eficiência de remoção para o controle, Reator 1

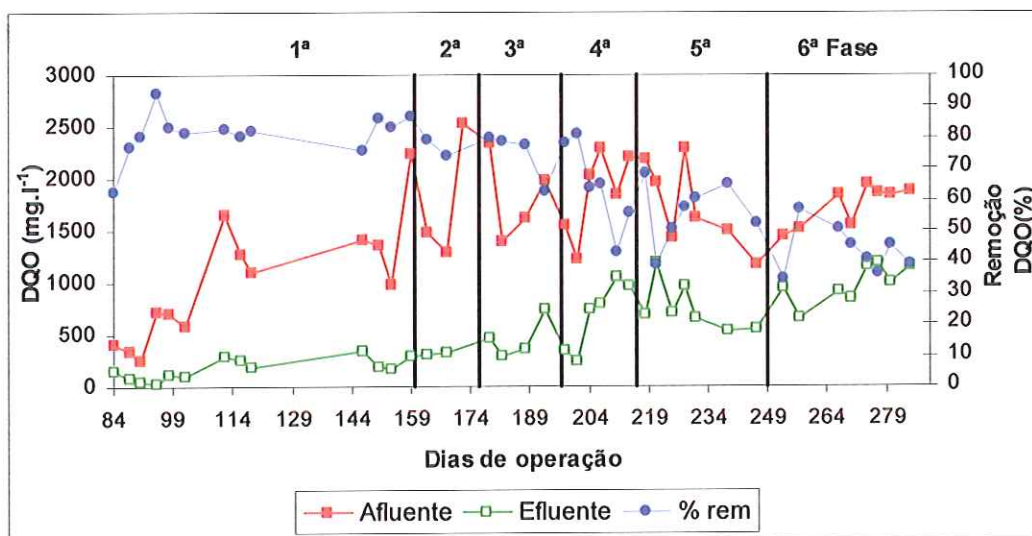


Figura 5.12 - DQO afluente, efluente e eficiência de remoção da 1ª a 6ª fase para o Reator 2 com adição de NaCl

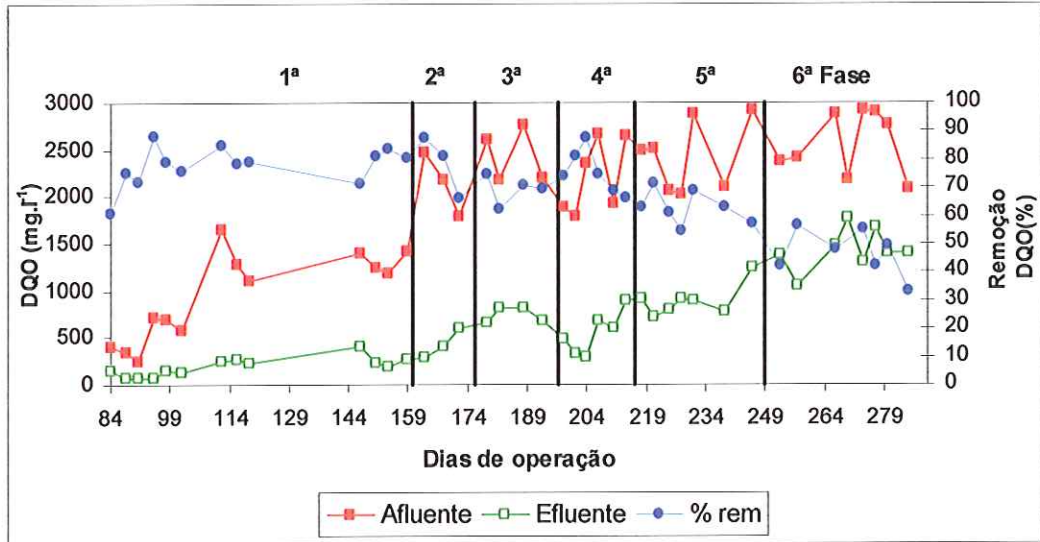


Figura 5.13 - DQO afluente, efluente e eficiência de remoção da 1ª a 6ª fase para o Reator 3 com adição de NaCl e Betaína

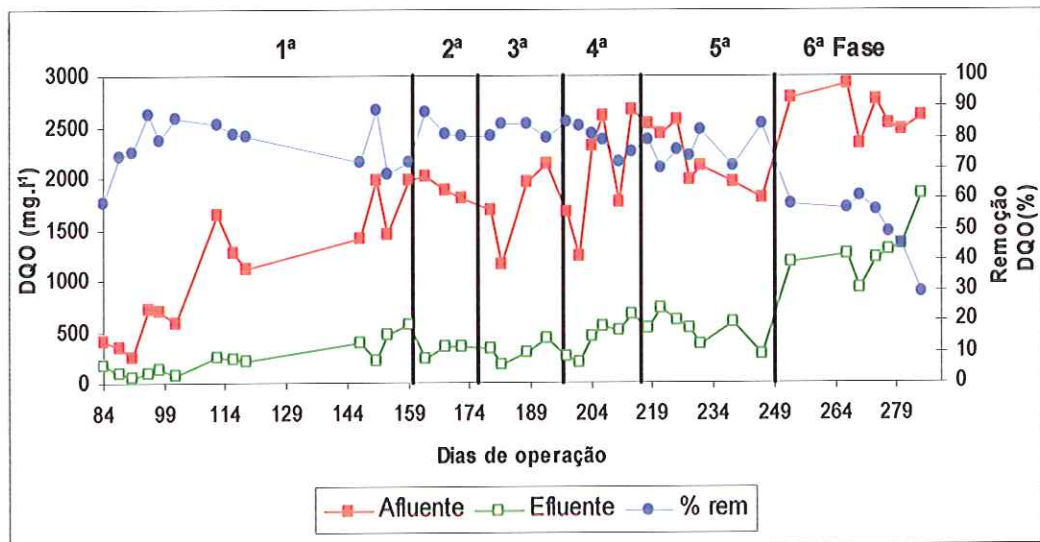


Figura 5.14 - DQO afluente, efluente e eficiência de remoção da 1ª a 6ª fase para o Reator 4 com adição de NaCl, Potássio e Cálcio

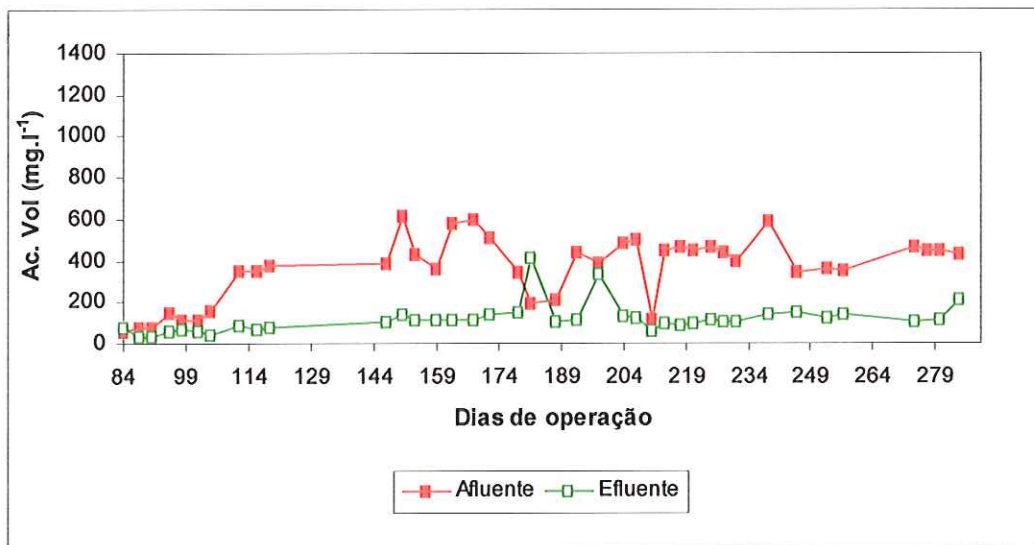


Figura 5.15 - Concentrações de Ácidos Voláteis no afluente e efluente para o controle, Reator 1.

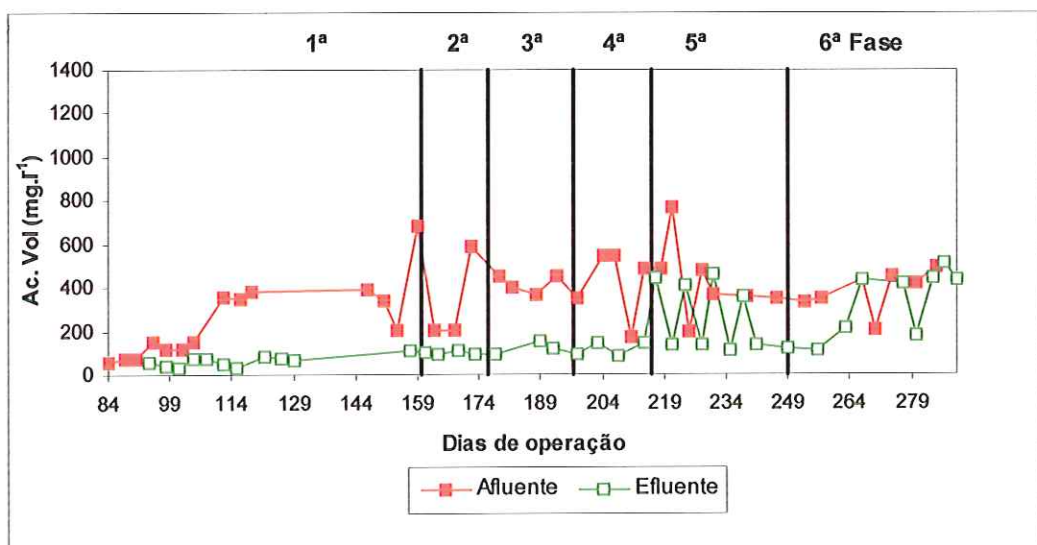


Figura 5.16 - Concentrações de Ácidos Voláteis no afluente, efluente da 1ª a 6ª fase para o Reator 2 com adição de NaCl



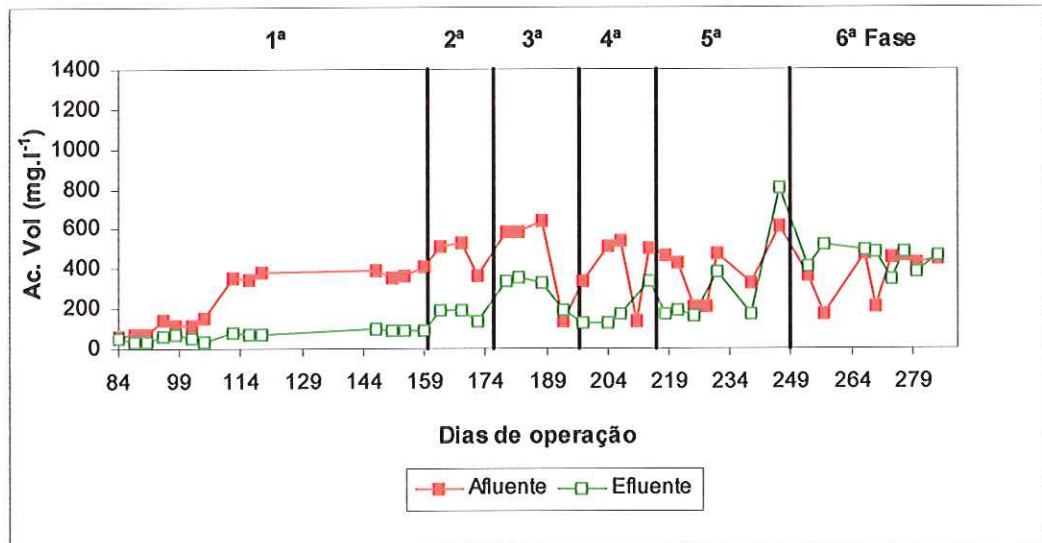


Figura 5.17 - Concentrações de Ácidos Voláteis no afluente e efluente da 1ª a 6ª fase para o Reator 3 com adição de NaCl e Betaína

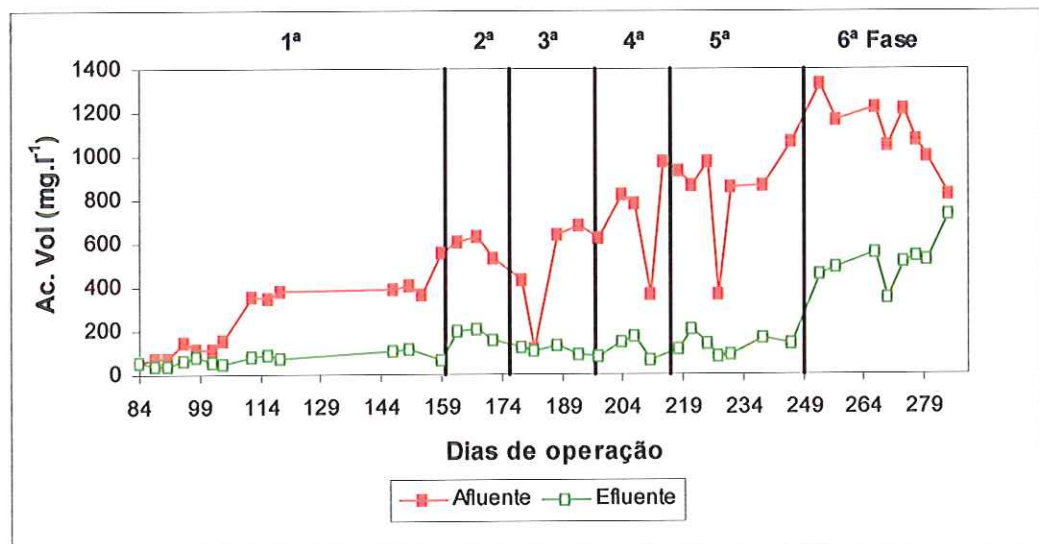


Figura 5.18 - Concentrações de Ácidos Voláteis no afluente e efluente da 1ª a 6ª fase para Reator 4 com adição de NaCl, potássio e cálcio

As Tabelas 5.3 e 5.4 apresentam a concentração média de sólidos suspensos voláteis no afluente e efluente dos quatro reatores para as seis fases.

**Tabela 5.3** - Concentrações de Sólidos Suspensos Voláteis média (mg.l<sup>-1</sup>) para os quatro reatores

Reator	1ª FASE		2ª FASE		3ª FASE	
	Af <sup>(5)</sup>	Ef <sup>(5)</sup>	Af <sup>(3)</sup>	Ef <sup>(3)</sup>	Af <sup>(2)</sup>	Ef <sup>(2)</sup>
R1	48±9	32±13	39±16	23±11	67±14	33±35
R2	48±9	29±16	50±43	44	85±29	47±40
R3	48±9	30±24	46±18	23±19	52±2	127±86
R4	48±9	40±13	49±22	21±5	69±20	43±23

Af: afluente, Ef: efluente, () - Número de amostragens;

**Tabela 5.4** - Concentrações de Sólidos Suspensos Voláteis média (mg.l<sup>-1</sup>) para os quatro reatores

Reator	4ª FASE		5ª FASE		6ª FASE	
	Af <sup>(3)</sup>	Ef <sup>(3)</sup>	Af <sup>(5)</sup>	Ef <sup>(5)</sup>	Af <sup>(3)</sup>	Ef <sup>(3)</sup>
R1	88±16	32±18	73±24	38±17	46	66
R2	61±42	64±18	94±42	94±18	105±83	133±132
R3	92±25	72±14	47±18	68±12	69±44	153±135
R4	101±62	40±15	40±12	68±40	80±65	95±115

Af: afluente, Ef: efluente, () - Número de amostragens;

Os dados das Tabelas 5.3 e 5.4 indicam que nas **fases 1ª a 5ª** praticamente não houve arraste de sólidos nos reatores. Esses sólidos apresentaram cor escura (preta). Porém, a partir da **6ª fase**, nos reatores 2, 3 e 4 observou-se que o lodo estava acinzentado, indicando que os sólidos estavam perdendo as características originais de lodo anaeróbio. Além disso, houve um acúmulo de lodo na superfície dos reatores devido à formação dos gases na manta que ocorriam na forma de pulsos, pois os gases eram liberados intermitentemente e arrastavam parte da manta de lodo para superfície do reator.

A perda de biomassa da base do reator para o topo do mesmo poderia indicar que a quantidade de biomassa ativa foi insuficiente para promover melhores eficiências nos reatores, pois não se pode afirmar que a biomassa flotada recebia os mesmos nutrientes que a biomassa na base do reator. Isto pode ser um indicativo de que houve baixa relação de substrato e biomassa, principalmente para os reatores que receberam cloreto de sódio. Essas observações estão de acordo com SPEECE (1996) que diz quando um

tóxico inibe a atividade da biomassa em 50%, é preciso duas vezes mais biomassa para tratar uma dada quantidade de poluente orgânico.

As Figuras 5.19, 5.20, 5.21.,5.22, 5.23, 5.24, 5.25 e 5.26 ilustram o ocorrido.



**Figura 5.19** - Lodo da base do Reator 1



**Figura 5.20** - Lodo flotado no Reator 1



**Figura 5.21** - Lodo da base do Reator 2



**Figura 5.22** - Lodo flotado no Reator 2





**Figura 5.23** - Lodo da base do Reator 3



**Figura 5.24** - Lodo flotado no Reator 3



**Figura 5.25** - Lodo da base do Reator 4



**Figura 5.26** - Lodo flotado no Reator 4

As Tabelas 5.5 e 5.6 apresentam as concentrações afluentes de cloretos e de sódio para os quatro reatores. O reator 1, controle do sistema, apresentou cloretos na faixa de  $100 \text{ mg.l}^{-1}$  a  $300 \text{ mg.l}^{-1}$  e concentração de sódio de  $550 \text{ mg.l}^{-1}$  a  $750 \text{ mg.l}^{-1}$ . Tais concentrações se devem à adição de extrato de carne pastoso, utilizado como fonte de carbono, que contém cloreto de sódio e também ao NaCl contido na água residuária, apresentados na Tabela 4.1. Nos demais reatores, a presença de cloretos e de sódio foi proporcional às concentrações afluentes adicionadas em cada fase.

**Tabela 5.5** - Concentrações afluentes de cloretos ( $\text{mg.l}^{-1}$ ) para os quatro reatores

	<b>2ª FASE</b>	<b>3ª FASE</b>	<b>4ª FASE</b>	<b>5ª FASE</b>	<b>6ª FASE</b>
<b>Cl<sup>-</sup> adicionado</b>	<b>900</b>	<b>1800</b>	<b>3600</b>	<b>5400</b>	<b>8100</b>
R1*	124	100	100	300	300
R2	920	2100	2900	4400	7100
R3	1.790	1600	3100	4500	6200
R4	880	1200	3000	4300	6200

\* No reator 1 não foi adicionado NaCl. Esta concentração apresentada é apenas do substrato.

**Tabela 5.6** - Concentrações afluentes de sódio ( $\text{mg.l}^{-1}$ ) para os quatro reatores

	<b>2ª FASE</b>	<b>3ª FASE</b>	<b>4ª FASE</b>	<b>5ª FASE</b>	<b>6ª FASE</b>
<b>Na<sup>+</sup> adicionado</b>	<b>600</b>	<b>1.200</b>	<b>2.400</b>	<b>3.600</b>	<b>5.400</b>
R1*	550	600	625	750	650
R2	1.400	2100	4625	6250	10000
R3	1.650	2650	4750	6250	9500
R4	1.500	2550	5000	6500	9500

\* No reator 1 não foi adicionado NaCl. Esta concentração apresentada é apenas do substrato.

Nos experimentos, observou-se produção de metano (Tabela 5.7) bem inferior à calculada considerando o valor teórico máximo indicado pela estequiometria, 350 mL de metano para cada 1.000 mg de DQO removida nas CNTP. Assim, pode-se concluir que não houve coerência entre os dados obtidos. Essas medidas se devem a vários fatores, entre eles: vazamentos nas tubulações de gás, defeito nos medidores, além da separação deficiente de sólido/líquido/gás nos reatores. Por esses motivos, optou-se em não apresentar os resultados das análises da composição dos gases, pois não foi possível nada concluir.

Tabela 5.7 - Produção média de biogás em mL.d<sup>-1</sup> para os quatro reatores

Fases	DQO (mg.l <sup>-1</sup> )	R1	R2	R3	R4
1 <sup>a</sup>	500 a 2000	34	24	23	30
2 <sup>a</sup>		23	27	23	27
3 <sup>a</sup>		41	19	16	26
4 <sup>a</sup>	2000	47	14	35	15
5 <sup>a</sup>		16	15	25	35
6 <sup>a</sup>		20	17	1	18

#### 5.4 - Exames Microbiológicos na Manta de Lodo

As morfologias encontradas no inóculo (**fase zero**) proveniente do reator UASB utilizado no tratamento de resíduos de abatedouro de aves foram as seguintes: cocos, vibrios, bacilos ovalados, sarcinas, bacilos com a extremidade afilada, e bacilos retos, além de morfologias semelhantes à *Methanosarcina* sp. e *Methanosaeta* sp. às quais se atribui a estabilidade do grânulo. O grânulo apresentou-se maciço e com estrutura de difícil desprendimento.

As morfologias mais freqüentes observadas no inóculo e nas amostras dos reatores 2, 3 e 4 até a **3<sup>a</sup> fase** estão apresentadas na Figura 5.27.

A partir da **4<sup>a</sup> fase** o Reator 2, alimentado com água residuária e NaCl, apresentou redução da variedade de morfologias semelhante a *Methanosarcina* sp. e *Methanosaeta* sp.. As variadas morfologias de bacilos continuaram presentes. As morfologias dos reatores 3 e 4 mantiveram-se semelhantes às do inóculo e do Reator 1, não apresentando grandes diferenças de microrganismos, segundo a metodologia utilizada. Estes resultados estão de acordo com DE BAERE *et al.* (1984) que observou que em concentrações de NaCl, 33 g.l<sup>-1</sup>, a maioria das populações de *Methanosarcina* foram levadas com o efluente.

As Tabelas 5.8 e 5.9 apresentam um resumo das morfologias dos microrganismos presentes nos reatores ao longo do experimento.



**Tabela 5.8 - Morfologia dos microrganismos presentes nos reatores ao longo do experimento**

Morfologias	FASE 0, sem NaCl				1ªFASE, sem NaCl				2ªFASE, NaCl = 1500			
	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
Cocos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**	-	-
Cocobacilo	*	-	**	***	**	-	-	-	-	*	-	-
Methanosarcina	***	***	**	***	****	***	**	***	*	****	-	**
Methaosaeata	-	-	**	-	**	***	**	**	****	***	***	**
Bacilo ovalado	***	***	**	*	-	-	-	-	**	**	-	-
Bacilo delgado	-	**	**	*	*	***	**	***	*	**	**	**
Bacilo comprido	-	-	-	**	-	***	**	***	-	-	**	-
Vibrio	*	-	-	***	*	-	-	-	-	**	***	-
Acidogênicas filamentosas	-	-	-	-	**	-	-	-	-	-	*	*
Cistos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacilos Fluorescentes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	***

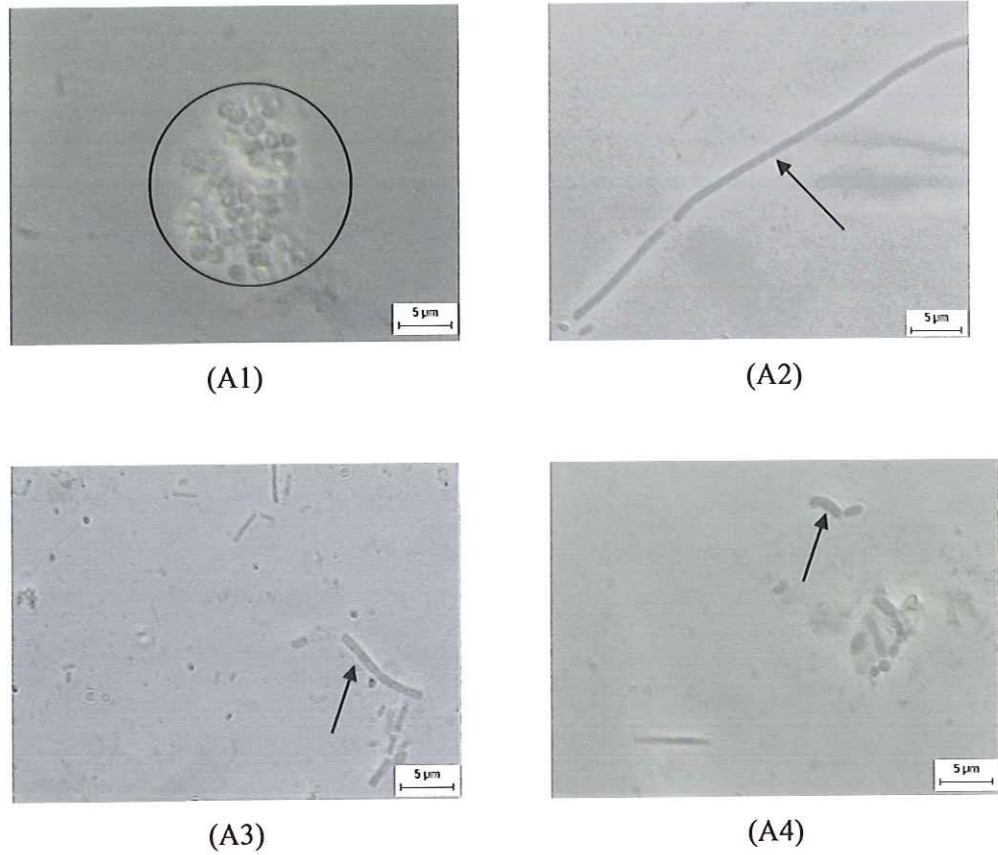
(\*\*\*\*) Predominantes; (\*\*\*) freqüentes; (\*\*) pouco freqüentes; (\*) raros; (-) não foram encontrados. Unidades do NaCl em mg.l<sup>-1</sup>.

**Tabela 5.9-** Morfologia dos microrganismos presentes nos reatores ao longo do experimento

Morfologias	3ªFASE, NaCl = 3000				5ªFASE, NaCl = 9000				6ªFASE, NaCl = 13500			
	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
Cocos	-	-	-	-	**	-	-	-	**	-	-	-
Cocobacilo	-	-	-	**	**	-	-	**	-	**	-	-
Methanosarcina	**	-	***	***	**	-	**	-	**	-	-	-
Methaosaeta	**	-	***	***	***	**	**	*	**	**	**	***
Bacilo ovalado	-	**	**	-	-	*	*	***	-	-	-	**
Bacilo delgado	*	**	**	-	*	**	*	-	***	*	*	**
Bacilo comprido	*	-	-	*	-	*	*	-	*	-	**	-
Víbrio	*	*	**	***	-	*	*	-	*	*	***	***
Acidogênicas filamentosas	-	**	-	-	-	-	-	-	**	-	**	-
Cistos	-	-	-	-	***	-	-	-	-	**	-	-
Bacilos	**	***	-	***	-	**	-	***	-	-	-	-
Fluorescentes												

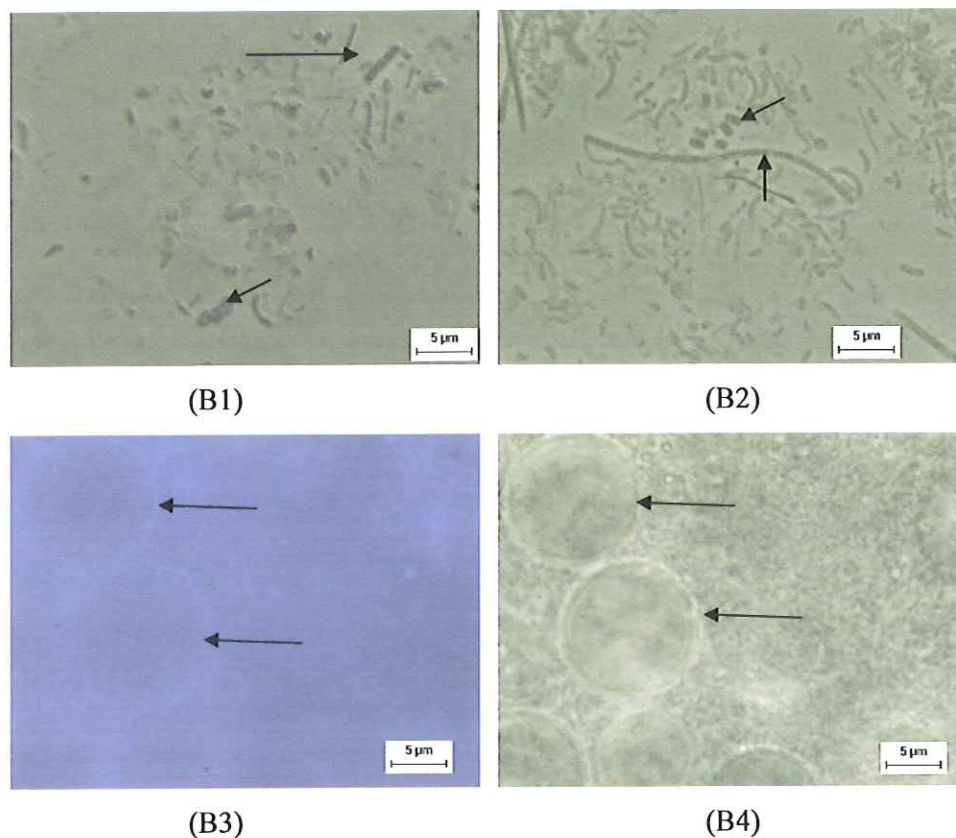
(\*\*\*\*) Predominantes; (\*\*\*) freqüentes; (\*\*) pouco freqüentes; (\*) raros; (-) não foram encontrados. Unidades do NaCl em mg.l<sup>-1</sup>

A Figura 5.27 apresenta as morfologias do inóculo e presentes nos Reatores 2, 3 e 4 até a **3ª fase**.



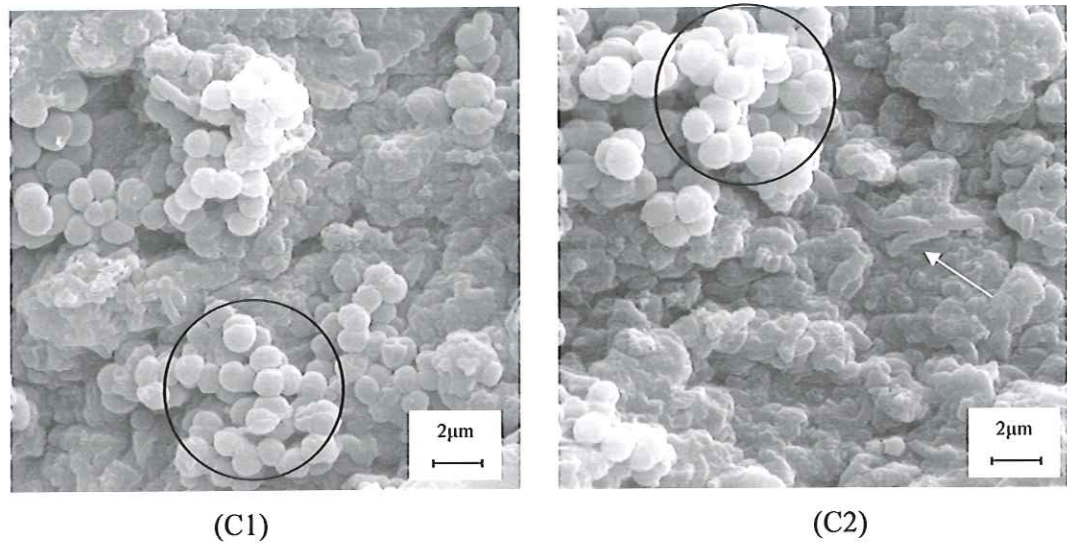
**Figura 5.27-** Morfologias observadas sob microscopia de contraste da fase no inóculo e nas amostras dos reatores 2, 3 e 4 até a **3ª fase**. (A1) Morfologia semelhante a *Methanosarcina* sp. ; (A2) Morfologia semelhante a *Methanosaeta* sp, (A3) Bacilos Delgados, (A4) Víbrio.



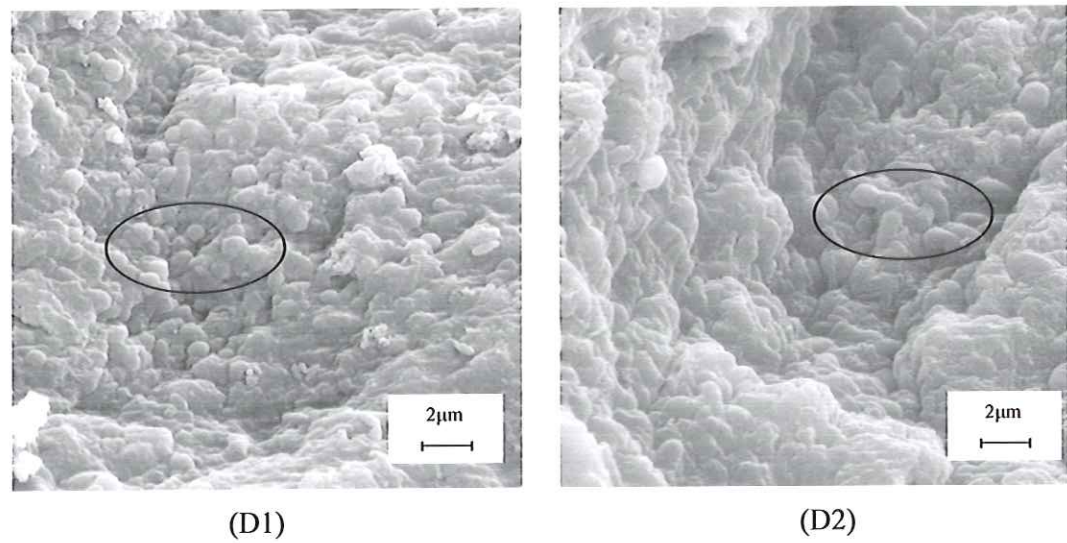


**Figura 5.28** - Observações morfológicas sob microscopia de contraste de fase e epifluorescência encontradas a partir da **4ª Fase** para o Reator 2: (B1) Bacilos de dimensões variadas, (B2) Morfologia semelhante a *Methanosaeta* sp. , Bacilos de dimensões variadas, víbrios e cocobacilo, (B3 e B4) morfologia semelhante a cistos de *Methanosarcina* sp..

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para uma melhor visualização das morfologias encontradas na microscopia óptica de contraste de fase e epifluorescência. Foi possível captar as imagens de bacilos de diferentes formas e tamanhos, morfologia semelhante a *Methanosarcina* sp., víbrios e cocos. As fotos foram realizadas com 5000 vezes de aumento. As Figuras 5.29, 5.30, 5.31 e 5.32 apresentam os resultados da microscopia eletrônica de varredura para os quatro reatores.

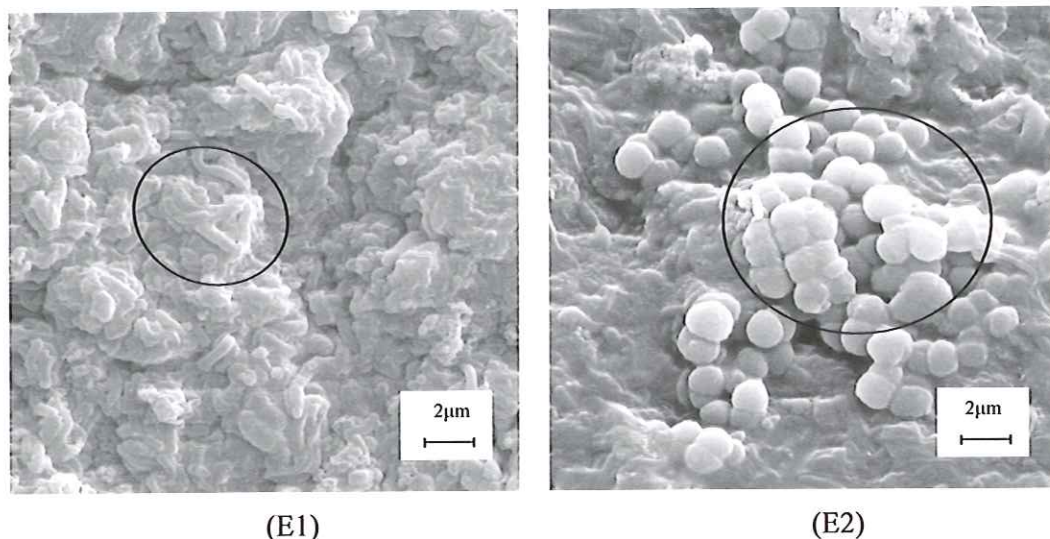


**Figura 5.29** – Imagem de microscopia eletrônica de varredura para o Reator 1: (C1) morfologia semelhante a *Methanosarcina* sp. e (C2) Bacilos de dimensões variadas e morfologia semelhante *Methanosarcina* sp..

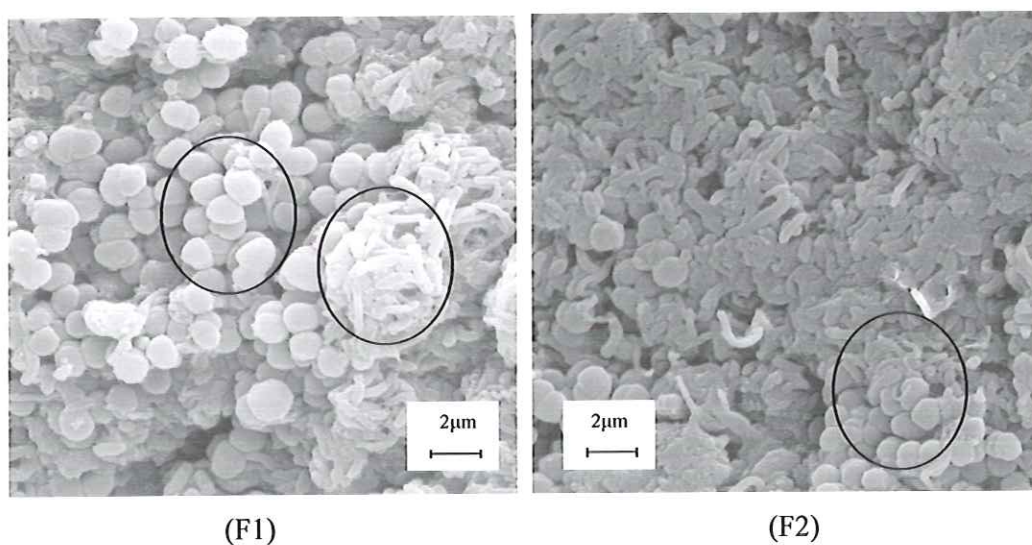


**Figura 5.30** – Imagem de microscopia eletrônica de varredura para o Reator 2: (D1) Cocos e (D2) morfologia semelhante a *Methanosarcina* sp..





**Figura 5.31** – Imagem de microscopia eletrônica de varredura para o Reator 3: (E1) cocos bacilos de diversos tamanhos e (E2) morfologia semelhante à de *Methanosarcina* sp..



**Figura 5.32** – Imagem de microscopia eletrônica de varredura para o Reator 4: (F1) e (F2) cocos, bacilos de extremidades arredondadas, retos, curtos e longos e víbrios.

Foram realizadas medidas de área, largura e comprimento dos grânulos apenas na última fase do experimento (**6ª fase**) para os reatores 1, 2, 3 e 4, pois a retirada da manta de lodo para a realização das análises nas fases intermediárias poderia prejudicar a estabilidade dos reatores. Observou-se um aumento relevante no volume dos grânulos ao longo do experimento e esse fato pode ser confirmado pelo aumento das dimensões

medidas pela análise granulométrica (área, largura e comprimento). Foram medidos aproximadamente 250 grânulos de cada reator e os valores médios obtidos estão apresentados na Tabela 5.10

**Tabela 5.10.**-Medidas da área, largura e comprimento dos grânulos da última fase do experimento (6ª fase) para os quatro reatores.

Medidas	Inóculo	R1	R 2	R 3	R 4
Área transversal (mm <sup>2</sup> )	3,713	9,983	9,414	8,737	10,078
Largura (mm)	2,269	3,89	3,75	3,575	3,9
Comprimento (mm)	1,965	2,98	2,9	2,826	2,92

Os resultados do FISH indicaram população muito grande de arqueas em relação a população de eubactérias no inóculo, o que não se manteve até o final do experimento, quando as população de eubactérias se tornou predominante em relação à população de arqueas, em todos os reatores. Na Tabela 5.11 pode-se observar que a população de Arqueas foi reduzida com a adição de cloreto de sódio de 3.000 mg.l<sup>-1</sup> quando comparada ao inóculo. Dessa forma, na **6ª fase** do experimento, quando a concentração de sal foi de 13.500 mg.l<sup>-1</sup> as Eubactérias foram aumentadas quando comparadas com a **3ª fase**. Isto pode indicar que as Arqueas foram claramente afetadas pela concentração de cloreto de sódio ao longo de todo experimento.

**Tabela 5.11** - Porcentagem da população de Arqueas e Eubactérias

REATOR	3ª FASE		6ª FASE	
	NaCl = 3.000 mg.l <sup>-1</sup>		NaCl = 13.500 mg.l <sup>-1</sup>	
	% Arqueas	% Eubactérias	% Arqueas	% Eubactérias
Inóculo	65,62	23,00	65,62	23,00
R2	50,21	32,56	41,31	49,80
R3	50,79	43,30	45,01	52,80
R4	48,16	33,23	38,78	50,06





### 5.5 - Características da operação de reator UASB aplicado ao tratamento de efluente de indústria de charque

A motivação dessa pesquisa originou-se em uma indústria de Charque, aqui denominada de indústria A, que trata os efluentes através da operação de um reator UASB. Esse reator opera com carga orgânica volumétrica de 2 a 5 kg DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, tempo de detenção hidráulica de 2 dias e o inóculo foi proveniente de estação de tratamento de esgoto sanitário. A solução proposta para tratar água residuária com alta salinidade, depois das várias tentativas já citadas, foi utilizar o recurso da diluição antes do efluente entrar no reator e mesmo assim, foi preciso de 3 anos para o reator UASB apresentar bom desempenho. Após essa medida, obtiveram-se bons resultados em termos de eficiência de remoção de matéria orgânica e hoje esta se encontra acima de 80%. Porém, analisando o lado econômico, essa solução não é totalmente viável, já que a água utilizada na maioria das indústrias provém de poços profundos que em futuro bem próximo estarão sujeitas à cobrança pelo uso.

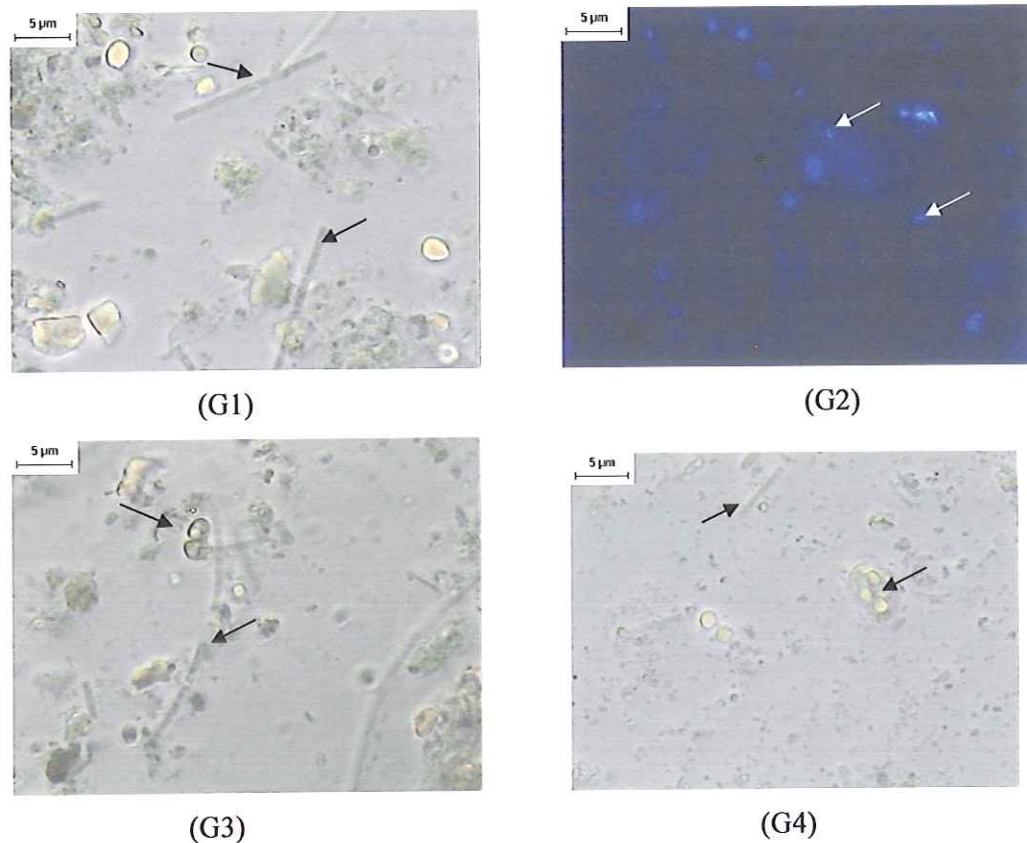
Em outra indústria de Charque, denominada de indústria B, com características semelhantes, o reator UASB opera com carga orgânica volumétrica de 3 a 5 kg DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>, tempo de detenção hidráulica de 1,6 dia. O reator não foi inoculado previamente e o desempenho em redução de DQO está em torno de 90%. Nessa indústria não é realizada a diluição diretamente, pois existe um tanque específico para a salga, onde essa salmoura é enviada aos poucos para o reator UASB.

Para comparação com os reatores estudados foi realizada a microscopia ótica da biomassa dos reatores instalados nas indústrias A e B. Para a indústria A, as morfologias foram: nanobactérias, pouquíssimas bactérias fototróficas, bacilos e alguns bacilos hidrogenotróficos. As morfologias encontradas no reator UASB da indústria B foram: bacilos em grande quantidade, principalmente os fluorescentes, bactérias fototróficas anoxigênicas em abundância, poucas sarcinas e alguns fungos.

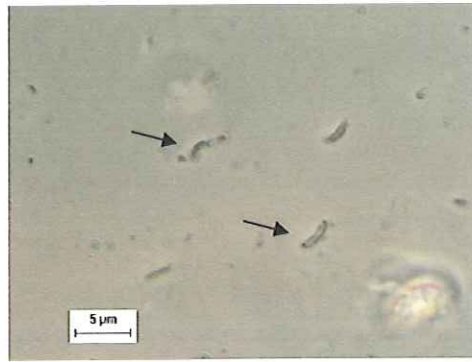
Após a análise de ambos exames microscópicos, concluiu-se que a indústria B possui as bactérias fototróficas anoxigênicas que apresentam características de necessitar de cloreto de sódio para a sua sobrevivência. Portanto, é fácil observar que projeto de engenharia influencia diretamente no sucesso operacional do reator para produzir um efluente com qualidade adequada. Portanto, deve-se ter atenção para

configuração do reator, tempo de residência celular adequado, tempo de detenção hidráulica suficiente e condições ambientais favoráveis para o bom desempenho do sistema que nesse caso se destaca a formação de bactérias específicas que possuem afinidade com o cloreto de sódio.

As Figuras 5.33 e 5.34 apresentam as morfologias encontradas no reator UASB da indústria A e B.



**Figura 5.33:** Observações morfológicas sob microscopia de contraste de fase e epifluorescência encontradas para a indústria A: (G1) Morfologia semelhante a *Methanosaeta* sp., (G2) Bacilos hidrogenotróficos, (G3) bactérias fototróficas e (G4) Morfologia semelhante a *Methanosarsinca* sp e nanobactéria.



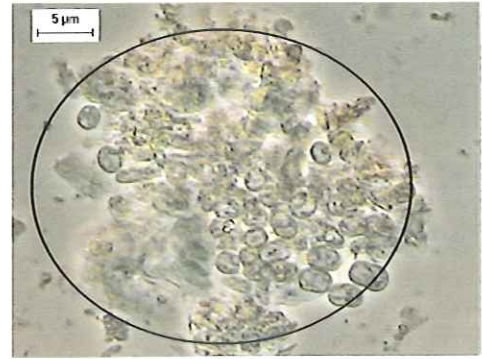
(H1)



(H2)



(H3)



(H4)

**Figura 5.34:** Observações morfológicas sob microscopia de contraste de fase e epifluorescência encontradas para a indústria B: (H1) bacilos, (H2) Cocos, (H3) Morfologia semelhante a *Methanosarsinca* sp e (H4) bactérias fototróficas.



## 6 - CONSIDERAÇÕES

Segundo LEHNINGER (1917), os sistemas de transporte ativo presente em várias células mantém concentrações internas constantes e ótimas de eletrólitos inorgânicos, como potássio e cálcio, que são essenciais para a regulação de muitas atividades celulares. Esses compostos auxiliam também na manutenção das inter-relações osmóticas entre as células e meio circundante e, como consequência, mantém o volume das células. Este pode ser um indicativo de que a presença do cálcio colabore com o potássio para minimizar os efeitos da toxicidade do sódio, já que, quando este se encontra presente no meio em elevada quantidade, tende a ressecar a célula. Por este motivo, acredita-se que se encontra justificado o melhor desempenho para o reator que recebeu potássio e cálcio como antagonizantes.

Segundo MADIGAN *et al.* (1997), organismos que crescem em meio com altas concentrações de solutos, somente obtêm água quando aumentam a concentração interna desses solutos. Esse aumento pode ocorrer de duas formas: 1) através da obtenção de íons inorgânicos presentes do meio e, 2) pela síntese ou acúmulo de solutos orgânicos. As ligações dos íons ou de proteínas com moléculas de água é que não permite o ressecamento das células, pois a produção ou acúmulo dessas substâncias pelas células aumenta o seu potencial osmótico. Isso é possível por causa da camada de solvatação que ocorre sobre essas moléculas, mantendo as moléculas da água no interior da célula.

Os solutos compatíveis devem ser altamente solúveis em água, como açúcares e aminoácidos, por exemplo. De acordo com WILLETS (1998), a adição de 1 mM de betaína em águas residuárias sintética de lavanderia não minimizou a toxicidade do sódio em reator UASB. A biomassa mesofílica mostrou somente uma ligeira melhora com adição da betaína com sal na concentração de 10 a 20 g.l<sup>-1</sup>. A autora justifica que a concentração de betaína pode ter sido insuficiente para que melhores resultados fossem obtidos. Talvez para a pesquisa em questão o mesmo possa ter ocorrido.

Em relação à presente pesquisa, os resultados referentes ao reator que continha

betaína não foram tão satisfatórios, porém esse composto usado como regulador osmótico pode minimizar o efeito da alta concentração de sódio na célula. Contudo, a pesquisa anteriormente citada por YERKES *et al.* (1997) obteve sucesso na aplicação de betaína como antagonizante, quando utilizou sacarose como substrato, que apresenta fácil degradação.

Segundo YANCEY *et al.* (1982), podem ocorrer interações pelos solutos compatíveis agindo diretamente na macromolécula como co-fatores, sítios ativos e substratos. Esse efeito dos solutos compatíveis sobre a estrutura macromolecular é pouco entendido e existe um debate considerável sobre essas relações, mas o autor trata essas questões empiricamente.

Segundo vários autores já citados, a betaina é um soluto compatível acumulado e ou produzido em algumas bactérias não fototróficas, principalmente Gram positivas. A fonte de betaína utilizada foi cocoamidopropilbetaína que é um ácido graxo de cadeia longa, com o aminoácido betaína ligado a ele. Pode-se dizer que a eficiência nesse reator poderia ter sido mais elevada, porém o fato dessa molécula ser muito grande, talvez não tenha disponibilizado quantidade suficiente de betaína para obter melhores resultados.

Pode-se observar que o reator que continha potássio e cálcio obteve melhor desempenho até a 5ª fase do experimento. Assim, uma hipótese se destaca para justificar a melhor eficiência do Reator 4. Uma delas é que a fonte de potássio e cálcio utilizada foi na forma de sal de acetato, a qual gerou demanda de oxigênio em maior proporção em relação aos demais reatores. Esta proporção foi de 3,6 %; 7,2%; 14,4%; 21,6% e 32,4% para a 2ª, 3ª, 4ª, 5ª e 6ª fases, respectivamente. Esta adição pode ter favorecido as bactérias metanogênicas acetoclásticas, resultando em melhores eficiências para o Reator 4. De acordo com RINZEMA (1988) que pesquisou a inibição da metanogênese acetoclástica pelo sódio, em lodo granular de reator UASB, a capacidade de conversão do substrato no lodo granular reduz rapidamente com o decréscimo do acetato. Quando as concentrações de acetato são abaixo de  $500 \text{ mg.l}^{-1}$ , a capacidade do grânulo é limitada pela taxa de difusão do substrato dentro do grânulo. Essa limitação física mascara a inibição pelo sódio, tendo grande importância nas aplicações de experimentos com substâncias tóxicas.

## 7 - CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que a degradação da matéria orgânica em reator UASB passou a ser comprometida quando concentrações de NaCl foram superiores a  $6.000 \text{ mg.l}^{-1}$ , produzindo efeito inibidor sobre o processo de digestão anaeróbia. O reator que recebeu apenas adição de cloreto de sódio, após o aumento da concentração de cloreto de sódio para  $9.000 \text{ mg.l}^{-1}$ , apresentou queda na remoção de DQO, demonstrando que o sódio inibiu o processo de digestão anaeróbia em reator UASB.

O reator que recebeu íons potássio e cálcio manteve-se com eficiência média na remoção de DQO de 75% quando a concentração de cloreto de sódio de  $9.000 \text{ mg.l}^{-1}$  ( $3.600 \text{ mg.l}^{-1}$  de sódio) foi aplicada, indicando que esses íons podem minimizar o efeito inibitório do cloreto de sódio. Porém, quando concentração de sódio foi de  $5.400 \text{ mg.l}^{-1}$ , o desempenho desse reator reduziu drasticamente e a eficiência média de remoção foi de 55%.

A cocoamidopropilbetaína apresentou resultado pouco satisfatório como regulador osmótico para minimizar a concentração de sódio nas células. Porém, pode-se dizer que o fato dessa molécula ser muito grande, talvez não tenha sido disponibilizado quantidade suficiente de betaína para que o efeito antagônico dessa substância em relação ao NaCl tivesse ocorrido.

A presença de cátions no substrato, principalmente potássio, pode ter interferido no fenômeno do antagonismo e ou sinergismo.

Pode-se afirmar que o afluente das águas residuárias de indústria de Charque devem ser diluídos a partir da concentração de  $5.400 \text{ mg.l}^{-1}$ , pois se sabe que o sódio presente nesse tipo de água residuária é da ordem de  $12.000 \text{ mg.l}^{-1}$  a  $24.000 \text{ mg.l}^{-1}$ . Dessa forma, deve-se atenção ao consumo de água para a diluição, já que essa alternativa futuramente será onerosa.

A partir da **4ª fase**, o Reator que recebeu apenas cloreto de sódio apresentou redução de morfologias semelhante à de *Methanosarcina* sp. e *Methanosaeta* sp. As



morfologias dos reatores com antagonizantes mantiveram-se semelhantes ao do inóculo.

A partir da **6ª fase**, houve redução de morfologias semelhante à de *Methanosarcina* sp. e *Methanosaeta* sp. para os reatores que receberam o cloreto de sódio e antagonizantes. O resultado da técnica (FISH) que determina a porcentagem de indivíduos para o Domínio *Bactéria* e Domínio *Archaea* comprova essa redução.

## 8 - SUGESTÕES

Com base nos resultados obtidos nesse trabalho de pesquisa, sugere-se:

- ✓ Utilizar cloreto de potássio e de cálcio como fonte de cátions para observar se há favorecimento das bactérias metanogênicas acetoclásticas;
- ✓ Utilizar outra fonte de betaína;
- ✓ Utilizar outros solutos compatíveis: prolina, glutamato;
- ✓ Pesquisar o efeito da salinidade sobre a digestão anaeróbia em outras configurações de reatores.

## 9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. (1995) Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbial Reviews* 59; 143-169.
- ARAÚJO, J. C. (2001) Biofilmes Anaeróbios: desenvolvimento e caracterização filogenética usando hibridação in situ com sondas fluorescentes. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- BLACK, J. G. (1999) *Microbiology Principles and Explorations*, 4<sup>a</sup> edition.
- DE BAERE, L. A.; *et al.*(1984). Influence of high NaCl and NH<sub>4</sub>Cl Salt levels on Methanogenic Associations. *Water Research*, v 18, pp 543-548.
- CHERNICHARO, C. A. L. (1997) *Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias*, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – DESA, Universidade Federal de Minas Gerais v 5, 264 pp
- FEIJOO, G.; *et al.* (1995). Sodium inhibition in the anaerobic digestion process: Antagonism and adaptation phenomena. *Enzyme and Microbial Technology*. v17, pp 180-188.
- KARGI, F.; DINCER, A.R. (1996). Effect of salt concentration on biological treatment of saline wastewater by fed-batch operation. *Enzyme and Microbial Technology*. 19, pp529-537.
- KEMPT, B.; BREMER, E. (1998). Uptake and synthesis of compatible solutes as microbial stress responses to high-osmolality environments. 170, pp 319-330.



KUGELMAN, I.J.; MCCARTY, P.L. (1965). Cation toxicity and stimulation in anaerobic waste treatment. *Water Pollution Control Federation*. 37, pp 97-116.

KUGELMAN, I.J.; CHIN, K.K. (1971). Toxicity, Sinergism and Antagonism in Anaerobic Waste Treatment Processes. In *Advances in Chemistry, Series 105*, ed. RF Gould, American Chemical Society, Washington DC, pp 55-90.

HIRASAWA, J. S. (2003). Avaliação da Comunidade Microbiana Anaeróbia em Reator Sulfetogênico utilizando a Hibridação *in situ* com Sondas Fluorescentes, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, tese de obtenção de título de Mestre em Hidráulica e Saneamento.

LEHNINGER, A. L. (1917) *Bioquímica: tradução da 2ª edição americana, supervisão: José Reinaldo Magalhães. v3, Capítulo 28, pp 546. São Paulo, Editora Edgard Blucher*

LUDZACK, F.J; NORAN, D.K. (1965). Tolerance of high salinities by conventional wastewater treatment processes. *Water Pollution Control Federation*. v37, nº10, pp 1404-1416.

MCCARTY, P. L. (1964). *Anaerobic Waste Treatment Fundamentals*. Public works, part three – Toxic Materials and their Control, pp 91-94.

MCCARTY, P L.; MCKINNEY, R. E. (1961). Salt Toxicity in Anaerobic Digestion. *Water Pollution Control Federation* . 33, pp 399-415.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. (1997) *Brock Biology of Microorganisms*. Eight Edition, Prantice- Hall, Inc.

MENDEZ, R. J.; M. LEMA; M. S. (1995) Treatment of Seafood-Processing Wastewaters in Mesophilic and Thermophilic Anaerobic Filters. *Water Environment Research*, v 67, pp 33-45.

- MENZEL, D. W.;CORWIN, N. (1965) The measurement of total phosphorus in seawater based on the liberation of organically bound fractions by persulfate oxydation. *Limnology and Oceanography*, v. 10, pp. 280-282.
- NATION, J.L. (1983) New Method using hexamethildsilasane for preparation of soft tissues for scanning eletron microscopy.
- POOLMAN, B.; GLAASKER, E. (1998). Regulation of compatible solute accumulation in bacteria. *Molecular Microbiology*. v 29, nº 2, pp 397-407.
- RASKIN, L.; RITTMANN, B. E.; STAHL, D. A. (1996). Competition of sulfate reducing, and methanogenic populations in anaerobic biofilms. *Applied and Evironmental Microbiology*, 62 (10): 3847-3857.
- RINZEMA, A.; LIER, J. V.; LETTINGA, G. (1988). Sodium inhibition if Acetoclastic methanogens in granular sludge from a UASB reactor. *Enzyme Microb. Technol.*.v10, pp 24-32.
- SLEATOR, R.D.; HILL, COLIN. (2001) Bacterial osmoadaptation: the role of osmolytes in bacterial stress and virulence. *Fems Microbiology Reviews*. 26, pp 49-71.
- SPEECE, R.E. (1996). *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters*. Archae Press, Nashville, pp394.
- STANDARD METHODS FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER (1998). APHA, AWAA, and WPCF. Washington D.C.,American Publications Health Association. 20ª edição.

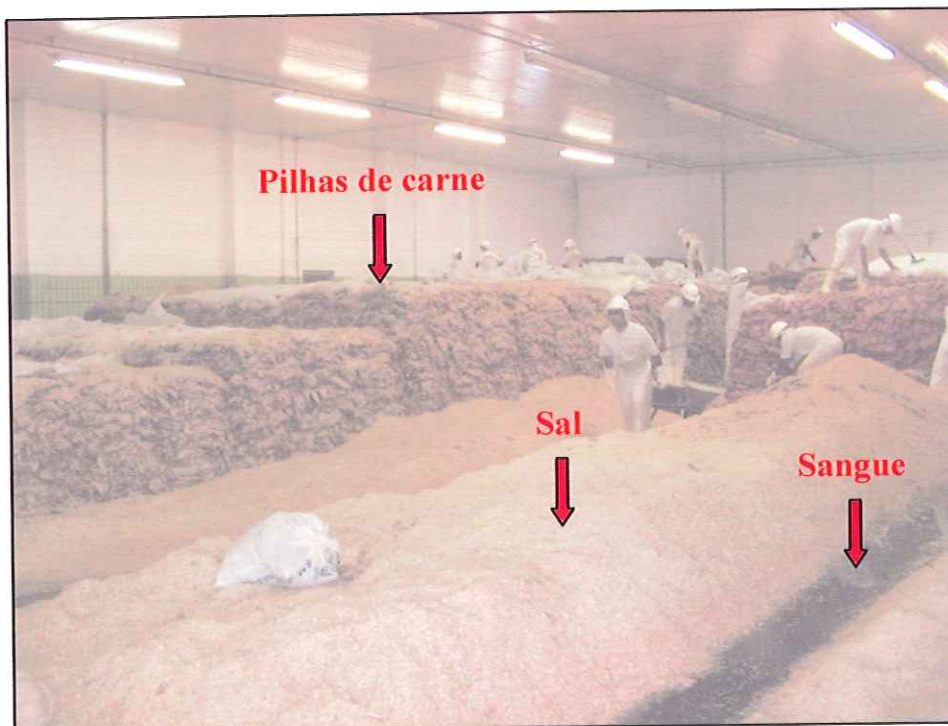
- TORRES, P. (1992). Desempenho de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgotos sanitários. 163 p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- YANCEY, P.H. *et al.* (1982). Living with Water Stress: Evolution of Osmolyte Systems. *Science*. 217, pp 1214-1222.
- YERKES, D.W; BOONYAKITSOMBUT, S.; SPEECE, R.E.(1997). Antagonism of Sodium Toxicity by the Compatible Solute Betaine in Anaerobic Methanogenic Systems. *Water Science Technology*. v 36, nº 6-7, pp 15-24.
- WILLETS, J.R.M. (1999) Thermophilic decolourisation of textile dye wastewater. Doctor of Philosophy. University of New South Wales. Salt Toxicity limitations in thermophilic anaerobic treatment of textile dye wastewater. Chapter Five, pp 106-134.
- WOOLARD, C.R.; IRVINE, R.L (1995). Treatment of hypersaline wastewater in the sequencing batch reactor. *Water Research*, v 29, nº4, pp 1159-1168.



**ANEXOS – FOTOS DO PROCESSO INDUSTRIAL**



**Foto 1 - Salga úmida**



**Foto 2 - Salga seca - pilhas de carne intercaladas com sal**



**Foto 3 - Lavagem da carne**





**Foto 4** - Carnes lavadas e empilhadas para o escoamento da água



**Foto 5** – Carnes estendidas para dessecação ao ar livre