UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ROBERTA SILVA DE SOUZA SANTANA

**Influência da velocidade ascensional e do regime de alimentação em ASBBR para
tratamento de águas residuárias de laticínios**

Pirassununga

2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ROBERTA SILVA DE SOUZA SANTANA

(versão corrigida)

**Influência da velocidade ascensional e do regime de alimentação em ASBBR para
tratamento de águas residuárias de laticínios**

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientador: Giovana Tommaso

Pirassununga

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

S232i Santana, Roberta Silva de Souza
Influência da velocidade ascensional e do regime de
alimentação em ASBBR para tratamento de águas
residuárias de laticínios / Roberta Silva de Souza
Santana. -- Pirassununga, 2012.
102 f.
Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Engenharia de Alimentos.
Área de Concentração: Ciências da Engenharia de
Alimentos.
Orientador: Profa. Dra. Giovana Tommaso.

1. Reatores anaeróbios 2. ASBBR 3. Efluente de
laticínio 4. velocidade de recirculação. I. Título.

*Dedico ao meu Deus,
Ao meu amado esposo Ronald que sempre me apoiou,
Ao meu querido filho Benjamim e
À minha mãe Dulce.*

Agradecimentos

Ao meu Deus, por ter me concedido o dom da vida e sobre ela ter me dado saúde e força para vencer todos os obstáculos.

Ao meu amado esposo Ronald Soares de Santana por tudo ele que é amigo, companheiro, e nunca mediu esforços para me apoiar com todo amor. Obrigada pela segurança que você me traz até nos momentos mais árduos.

Ao meu querido filho Benjamim, que ainda em ventre me acompanhou em boa parte dessa jornada.

À minha orientadora Profa. Dra. Giovana Tommaso, pela oportunidade, confiança, paciência, presteza, incentivo, atenção e acima de tudo pela amizade. Pelas lições acadêmicas e de vida. Muito, muito obrigada!

À minha mãe Dulce Vieira da Silva e aos sogros Rosária Moreira Soares de Santana e Joacy Francisco de Santana pela constante intercessão.

À Profa. Dra. Mariza Pires de Melo pela oportunidade, incentivo e amizade.

Ao Prof. Dr. Rogers Ribeiro, pelos ensinamentos, por toda a colaboração no andamento do projeto, pela disponibilidade em ajudar e pelo planejamento e montagem da Estação de Tratamento de Efluentes.

À amiga Mayara de Souza Figueiredo, verdadeiro braço direito.

Ao Prof. Dr. Júlio Cesar de Carvalho Balieiro pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Dr. José Aparecido da Cunha por toda colaboração.

Ao Engenheiro André Luís Bigaram Dibiasi pelo apoio e técnica na montagem da Estação de Tratamento de Efluentes.

Aos amigos do Laboratório de Biotecnologia Ambiental (LBA) Tatiana, Érica, Thaís, Kátia Juliana, obrigada por toda ajuda ao longo desse trabalho.

À Janja, Heloísa e Isabel do Laboratório de Bioprocessos do SHS – EESC-USP pela colaboração, ensinamentos de cromatografia gasosa e análises de Biologia Molecular e Microscopia.

Ao Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti pela liberação para assistir as aulas da pós-graduação.

A todos da seção de pós-graduação pelo bom trabalho e disponibilidade em ajudar.

Aos professores e funcionários dos Departamentos de Engenharia de Alimentos e da Zootecnia da FZEA, por toda colaboração.

Aos funcionários da biblioteca da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos pelas informações prestadas.

Ao CNPq pela concessão do financiamento do projeto pesquisa (processo nº 482660/2007-14).

À FAPESP pela concessão do financiamento do auxílio pesquisa, modalidade Jovem Pesquisador (processo nº 2007/54589-4) concedida ao Prof. Dr. Rogers Ribeiro.

Enfim agradeço a todos que de alguma forma contribuíram com essa conquista.

Muito Obrigada!!!

« O melhor lugar para estar é no centro da vontade de Deus. »

(Autor desconhecido)

Resumo

SANTANA, R.S.S. **Influência da velocidade ascensional e do regime de alimentação em ASBBR para tratamento de águas residuárias de laticínios.** 2012. 102f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da velocidade ascensional de recirculação e da estratégia de alimentação na eficiência de um reator anaeróbio com biomassa imobilizada operado em bateladas seqüenciais tratando efluentes provenientes de um laticínio de pequeno porte. Avaliaram-se três condições operacionais com valores de velocidade de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$, $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ e $6,4 \text{ m.h}^{-1}$, com tempo de ciclo de 48 horas. Finda esta etapa, avaliou-se a influência do volume tratado na eficiência do sistema. Nesta avaliação, o tempo de ciclo foi de 24 horas e estudaram-se duas condições experimentais, nas quais diariamente o reator era alimentado com 50% e 67% de seu volume. O reator, com volume total de 1000 L, foi instalado em área próxima ao laticínio. O suporte (“biobob”) utilizado para imobilização da biomassa foi um enchimento plástico preenchido com espuma de poliuretano. A alimentação foi feita com efluentes oriundos do laticínio escola da Prefeitura do Campus USP Pirassununga - PUSP-P com carga orgânica variável, de acordo com suas atividades. O monitoramento do reator foi realizado através de análises de demanda química de oxigênio (DQO) em amostras filtradas em membrana de poro $1,2 \mu\text{m}$ e brutas, nitrogênio total Kjeldahl e amoniacal, alcalinidade a bicarbonato e ácidos voláteis totais. Verificada a estabilidade do sistema, realizaram-se amostragens temporais para medida de concentração de substratos e metabólitos intermediários. A biomassa oriunda do inóculo e do reator nas três primeiras condições experimentais foi analisada através de exames de microscopia de contraste de luz e fluorescência, análises de biologia molecular e atividade metanogênica específica. O período total de monitoramento no estudo da influência da velocidade

ascensional de recirculação foi de 570 dias. As eficiências médias de remoção de matéria orgânica em amostras brutas foram $82 \pm 11 \%$; $84 \pm 9\%$; $87 \pm 9 \%$, quando as velocidades foram de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$, $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ e $6,4 \text{ m.h}^{-1}$, respectivamente. As eficiências médias de remoção de matéria orgânica em amostras filtradas foram $82 \pm 9\%$; $83 \pm 13 \%$; $87 \pm 9 \%$, quando as velocidades foram de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$, $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ e $6,4 \text{ m.h}^{-1}$, respectivamente. Não foram verificadas diferenças significativas entre as eficiências de remoção de matéria orgânica à medida que a velocidade ascensional aumentou, todavia percebeu-se diminuição no desvio padrão de tal parâmetro, favorecimento no processo de geração e consumo de ácidos e aumento na velocidade de conversão da matéria orgânica. Os resultados das análises de biologia molecular demonstraram que a biomassa se modificou adaptando-se ao efluente, mas apresentando pouca variação entre as duas últimas condições operacionais. Quando o tempo de ciclo foi diminuído para 24 horas, e o sistema alimentado com 50% e 67% de seu volume reacional, também não se verificou diferenças significativas em relação à eficiência de remoção de matéria orgânica, todavia a última condição operacional a que proporcionou maior volume de efluente tratado por dia. Conclui-se que o ASBBR foi eficiente, robusto e confiável para o tratamento de efluentes de laticínios nas condições de operações testadas.

Palavras-chave: reatores anaeróbios, ASBBR, efluente de laticínio, velocidade de recirculação.

Abstract

SANTANA, R.S.S. **Influence of the recirculation rate and feed strategy in ASBBR treating dairy wastewater.** 2012. 102p. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

The aim of the present study was to evaluate the influence of the recirculation rate and feed strategy on the efficiency of an Anaerobic Sequencing Batch Biofilm Reactor – ASBBR - treating effluents from a small dairy industry. Three operational conditions were studied in which the recirculation rate was 0.2 m.h⁻¹, 3.8 m.h⁻¹ e 6.4 m.h⁻¹ and the cycle time was 48 h. When this assay was finished, the cycle time was decreased to 24 hours and two operational conditions were studied, in which the reactor was fed with 50% and 67% of its reaction volume, respectively. The reactor with total volume of 1000L was assembled in an area closed to the dairy. The biomass was immobilized in plastic supports containing polyurethane foam. The reactor was fed by effluents from the dairy school (Prefeitura do Campus USP Pirassununga - PUSP-P) with organic loading rate variable according to the operations occurred in the plant. The system was monitored through chemical oxygen demand (COD) analyses, and measurements of nitrogen, alkalinity and volatile acids concentrations. When stability was verified, temporal profiles of substrate and metabolites concentrations were obtained. The biomass from the inoculum and from the reactor (operational conditions 1, 2 and 3) was analyzed through microscopic exams, molecular biology analyses and specific methanogenic activity assays. The monitoring period for the study of the influence of the recirculation rate lasted 570 days. The average efficiencies of organic matter removal were 82 ± 11 %; 84 ± 9%; 87 ± 9 %, when the velocities were 0.2 m.h⁻¹, 3.8 m.h⁻¹ e 6.4 m.h⁻¹, respectively. The average efficiencies of organic matter removal in filtrated samples were 82 ± 9%; 83 ± 13 %; 87 ± 9 % when the velocities were 0.2 m.h⁻¹, 3.8 m.h⁻¹ e 6.4 m.h⁻¹, respectively. Statistic differences were not verified; nevertheless it was possible to observe

that the values of standard errors decreased, the production and consumption of the volatile acids improved and the rate of organic matter removal increased when the velocity was rose. The results from the molecular biology analyses showed that the biomass changed and adapted to the treatment conditions, presenting low variation along the last condition. When the cycle time was decreased to 24 hours, and the system was fed with 50% and 67%, statistic difference among the efficiencies were again not observed, nevertheless, the latter condition resulted in the highest daily treated volume. It was possible to conclude that the ASBBR was efficient, robust and reliable in treating dairy effluents at the practiced conditions.

Key-words: Anaerobic reactor, ASBBR, dairy effluents, recirculation rate.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. OBJETIVOS.....	19
2.1. Objetivos específicos	19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3.1. Efluentes de Laticínios: Características e Problemática	20
3.2. Digestão Anaeróbia	22
3.3. Reatores anaeróbios para o tratamento de efluentes de laticínios	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1. Materiais	33
4.2. Local da montagem do experimento	34
4.3. Reator	35
4.4. Velocidades de recirculação.....	37
4.5. Inóculo	37
4.6. Água residuária	37
4.7. Métodos	38
4.7.1. Análises de monitoramento do processo.....	38
4.7.2. Quantificação e Qualificação de Ácidos Voláteis Totais.....	38
4.7.3. Exames microbiológicos	40
4.8. Ajustes cinéticos.....	44
4.9. Análises estatísticas.....	45
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1. Estudo da influência da velocidade ascensional na eficiência do sistema	47
5.1.1. Operação com velocidade ascensional de 0,2 m.h ⁻¹	47
5.1.2. Operação com velocidade ascensional de 3,8 m.h ⁻¹	55
5.1.3. Operação com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹	63
5.1.4. Comparação entre as condições referentes à velocidade	72
5.2. Estudo da influência do volume residual na eficiência do sistema	80
5.2.1. Operação com alimentação de 1/2 do volume reacional.....	80
5.2.2. Operação com alimentação de 2/3 do volume reacional.....	87
5.3. Comparação entre condições experimentais	95
6. CONCLUSÕES.....	97
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	98
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99

Índice de Figuras

Figura 1.1: Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos em digestão anaeróbia	23
Figura 4.1. Representação das condições experimentais.....	34
Figura 4.2. Esquema da Instalação da Estação Experimental de Tratamento de Efluentes do laticínio escola da PUSP-P.....	35
Figura 4.3.A. Representação do ASBBR. B. ASBBR.	36
Figura 4.4. Meio suporte (“biobob”)utilizado no ASBBR para imobilização de Microorganismos	36
Figura 4.5. Curva de calibração da bomba utilizada na recirculação do ASBBR	37
Figura 4.6. Cromatógrafo Gasoso Shimadzu GC-2014.	39
Figura 4.7: Representação do Ensaio de Atividade Metanogênica Específica	43
Figura 5.1- A: Concentração de matéria orgânica expressa em DQO (mg.L^{-1}) no afluente bruto ($\blacktriangle$) e efluente bruto ($\square$); B: Concentração de matéria orgânica expressa em DQO (mg.L^{-1}) no afluente filtrado ($\circ$) e efluente filtrado ($\blacklozenge$) em ASBBR operado com quando a velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$	48
Figura 5.2- Alcalinidade a bicarbonato ($\text{mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$) das amostras de afluentes ($\blacklozenge$) e efluentes ($\circ$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$	49
Figura 5.3- Acidez total (mg.L^{-1}) das amostras de afluentes ($\bullet$) e efluentes ($\square$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$	50
Figura 5.4. Amostragem temporal de matéria orgânica expressa em DQO total ($\blacklozenge$) e em amostras filtradas ($\circ$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.....	52
Figura 5.5. Amostragem temporal de pH em ASBBR operado com a velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.....	53
Figura 5.6. Amostragem temporal de alcalinidade a bicarbonato ($\text{mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$) em ASBBR operado com a velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.	53
Figura 5.7 Amostragem temporal de acidez total ($\text{mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.....	54
Figura 5.8. Amostragem temporal de ácidos voláteis – ácido acético ($\blacklozenge$), ácido propiônico ($\blacksquare$), ácido butírico ($\times$), ácido isobutírico ($\blacktriangle$), ácido isovalérico ($\ast$), ácido valérico ($\bullet$), ácido capróico ($+$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.	55
Figura 5.9- - A: Concentração de matéria orgânica expressa em DQO (mg.L^{-1}) no afluente bruto ($\blacktriangle$) e efluente bruto ($\square$); B: Concentração de Matéria Orgânica expressa em DQO (mg.L^{-1}) no afluente filtrado ($\circ$) e afluente filtrado ($\blacklozenge$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$	56
Figura 5.10. Acidez total (mg.L^{-1}) das amostras de afluentes ($\bullet$) e efluentes ($\square$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$	58
Figura 5.12. Amostragem temporal de matéria orgânica expressa em DQO total ($\blacklozenge$) e em amostras filtradas ($\circ$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.....	60

Figura 5.13 Amostragem temporal de acidez total (mg.L^{-1}) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.....	61
Figura 5.14. Amostragem temporal de alcalinidade a bicarbonato ($\text{mg.L}^{-1} \text{CaCO}_3$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.....	61
Figura 5.15. Amostragem temporal de pH em ASBBR operado com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.....	62
Figura 5.16.: Amostragem temporal de ácidos voláteis – ácido acético (◆), ácido propiônico (■), ácido butírico (×), ácido isobutírico (▲), ácido isovalérico (*), ácido valérico (●), ácido capríco (+) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$, em um período de 48 horas.....	63
Figura 5.17- A: Concentração de matéria orgânica expressa em DQO (mg.L^{-1}) no afluente bruto (▲) e efluente bruto (□); B: Concentração de Matéria Orgânica expressa em DQO (mg.L^{-1}) no afluente filtrado (○) e afluente filtrado (◆) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$	65
Figura 5.18- Acidez (mg.L^{-1}) das amostras de afluentes (●) e efluentes (□) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$	67
Figura 5.19- Alcalinidade a bicarbonato ($\text{mg.L}^{-1} \text{CaCO}_3$) das amostras de afluentes (◆) e efluentes (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$	68
Figura 5.20. Amostragem temporal de matéria orgânica expressa em DQO total (■) e em amostras filtradas (●) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$, em um período de 48 horas.....	69
Figura 5.21. Amostragem temporal de alcalinidade a bicarbonato ($\text{mg.L}^{-1} \text{CaCO}_3$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$, em um período de 48 horas.....	70
Figura 5.22 Amostragem temporal de acidez (mg.L^{-1}) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$, em um período de 48 horas.....	70
Figura 5.23. Amostragem temporal de pH em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$, em um período de 48 horas.....	71
Figura 5.24: Amostragem temporal de ácidos voláteis – ácido acético (◆), ácido propiônico (■), ácido butírico (×), ácido isobutírico (▲), ácido isovalérico (*), ácido valérico (●), ácido capríco (+) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$, em um período de 48 horas.....	72
Figura 5.25: Comparação entre valores de eficiência nas condições estudadas (Box Plot).	73
Figura 5.26.. Eficiência na Remoção de matéria orgânica nas condições estudadas. Eficiência Bruta (◆) e Filtrada (○).....	74
Figura 5.27. Observações morfológicas sob microscopia de contraste de fase e epifluorescência referentes ao inóculo do sistema – morfologias semelhantes à <i>Methanosaeta sp</i> (A) e <i>Methanosarcina sp</i> (B).....	75
Figura 5.28. Observações morfológicas sob microscopia de contraste de fase referentes a amostras do ASBBR, morfologias semelhantes a (A) microrganismos fluorescentes, na condição operacional de velocidade ascensional $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ (B) <i>Methanosaeta sp.</i> em ASBBR operado com velocidade ascensional $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ (C) <i>Methanosaeta sp.</i> em ASBBR operado com velocidade ascensional $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ (D) Bacilos em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$	76
Figura 5:29. Dendograma resultante das análises de PCR-DGGE: inóculo (1), condições experimentais com velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ (2), $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ (3) e $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ (4).	77

Figura 5.30. Curva de produção de metano (mL) no ensaio de Atividade Metanogênica Específica do (■) lodo de inóculo, (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹	78
Figura 5.31. Ilustração do ensaio de Atividade Metanogênica Específica.	79
Figura 5.32- A. Concentração de matéria orgânica expressa em DQO (mg.L ⁻¹) no afluente bruto (▲) e efluente bruto (□); B: Concentração de matéria orgânica expressa em DQO (mg.L ⁻¹) no afluente filtrado (○) e efluente filtrado (◆) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 50% do volume residual.	81
Figura 5.33. Acidez total (mg.L ⁻¹ CaCO ₃) das amostras de afluentes (●) e efluentes (□) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 50% do volume residual.	82
Figura 5.34. Alcalinidade a bicarbonato (mg.L ⁻¹ CaCO ₃) das amostras de afluentes (◆) e efluentes (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 50% do volume residual.	82
Figura 5.35. : Amostragem temporal de matéria orgânica expressa em DQO total (■) e em amostras filtradas (●) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 50% do volume residual, em um período de 24 horas.	84
Figura 5.36. Amostragem temporal de pH em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 50% do volume residual, em um período de 24 horas.	85
Figura 5.37. Amostragem temporal de acidez total (mg.L ⁻¹) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 50% do volume residual, em um período de 24 horas.	85
Figura 5.38. Amostragem temporal de alcalinidade a bicarbonato (mg.L ⁻¹ CaCO ₃) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 50% do volume residual, em um período de 24 horas.	86
Figura 5.39: Amostragem temporal de ácidos voláteis – ácido acético (◆), ácido propiônico (■), ácido butírico (×), ácido isobutírico (▲), ácido isovalérico (*), ácido valérico (●), ácido capríco (+) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 50% do volume residual, em um período de 24 horas.	87
Figura 5.40. A: Concentração de Matéria Orgânica expressa em DQO (mg.L ⁻¹) no afluente bruto (▲) e efluente bruto (□); B: Concentração de Matéria Orgânica expressa em DQO (mg.L ⁻¹) no afluente filtrado (○) e efluente filtrado (◆) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.	88
Figura 5.41. Alcalinidade a bicarbonato (mg.L ⁻¹ CaCO ₃) das amostras de afluentes (◆) e efluentes (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.	90
Figura 5.42. .Acidez total (mg.L ⁻¹ CaCO ₃) das amostras de afluentes (●) e efluentes (□) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.	91
Figura 5.43: Amostragem temporal de matéria orgânica expressa em DQO total (■) e em amostras filtradas (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas	92
Figura 5.44 Amostragem temporal de pH em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.	93
Figura 5.45. Amostragem temporal de acidez total (mg.L ⁻¹ em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h ⁻¹ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.	93

Figura 5.46. Amostragem temporal de alcalinidade a bicarbonato ($\text{mg.L}^{-1} \text{CaCO}_3$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.....94

Figura 5.47. Amostragem temporal de ácidos voláteis – ácido acético (◆), ácido propiônico (■), ácido butírico (×), ácido isobutírico (▲), ácido isovalérico (*), ácido valérico (●), ácido capróico (+) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.95

Lista de tabelas

Tabela 1.1– Comparação termodinâmica de algumas reações comuns na degradação anaeróbia.....	25
Tabela 4.2. Tempo de retenção dos Ácidos Graxos Voláteis (AGV)	39
Tabela 4.3. Composição da solução de Macronutrientes	42
Tabela 4.4. Composição da solução de Micronutrientes	42
Tabela 4.5. Composição da solução de Vitaminas.....	43
Tabela 5.1. Valores médios das variáveis monitoradas na operação com velocidade ascensional de recirculação de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$	51
Tabela 5.2. Valores médios das variáveis monitoradas na operação com velocidade ascensional de recirculação de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$	59
Tabela 5.3. Valores médios das variáveis monitoradas na operação com velocidade ascensional de recirculação de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$	66
Tabela 5.4. Concentração de sólidos do lodo do inóculo e do lodo do ASBBR quando operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$	78
Tabela 5.5. Valores médios das variáveis monitoradas na operação com alimentação de $1/2$ do volume reacional	83
Tabela 5.6. Valores médios das variáveis monitoradas na operação com alimentação de $2/3$ do volume reacional	89
Tabela 5.7. Resultados das cinco condições experimentais	96

Lista de Abreviaturas

AB	Alcalinidade a bicarbonato
AME	Atividade metanogênica específica
AGV	Ácidos graxos voláteis
ASBBR	Anaerobic sequencing batch biofilm reactor
ASBR	Anaerobic sequencing batch reactor
AT	Alcalinidade total
AVT	Ácidos voláteis totais
CE	Condição experimental
CONAMA	Conselho Nacional de Meio ambiente
COV	Carga orgânica volumétrica
DBO	Demanda Bioquímica de oxigênio
DGGE	Eletroforese em gel de gradiente desnaturante
DQO	Demanda química de oxigênio
FID	Detector por ionização em chama
N-NTK	Nitrogênio total Kjeldhal
N-NH ₄ ⁺	Nitrogênio amoniacal
PCR	Reação de cadeia polimerase
pH	Potencial hidrogeniônico
PUSP-P	Prefeitura do Campus - Pirassununga
SHS - EESC	Departamento de Hidráulica e Saneamento - Escola de Engenharia de São Carlos
SSV	Sólidos suspensos voláteis
ST	Sólidos totais
STV	Sólidos totais voláteis
TDH	Tempo de detenção hidráulica
TRH	Tempo de retenção hidráulica
UASB	Upflow anaerobic sludge blanket
UASFF	<i>Upflow anaerobic sludge-fixed film bioreactor</i>

1. INTRODUÇÃO

A preocupação com impactos ambientais, principalmente os relacionados aos recursos hídricos, tem levado os órgãos governamentais à implantação de legislação mais rigorosa e fiscalização mais atuante na punição de crimes dessa natureza. É crescente a conscientização das empresas e dos consumidores com a preservação do meio ambiente.

A resolução CONAMA (Conselho Nacional de Meio ambiente) n°. 357 de 17/03/2005 estabelece normas e padrões para a qualidade das águas e efluentes lançados nos corpos receptores. Esta resolução determina padrões de qualidade para nove classes de água e limites admissíveis de diversos parâmetros para efluentes gerados (BRASIL, 2005).

Tanto do ponto de vista econômico quanto social, os laticínios representam um importante setor da indústria alimentícia. As atividades agroindustriais geram grande variedade e quantidade de resíduos sólidos e líquidos que necessitam de disposição final adequada. Dentre essas atividades a indústria de laticínios se destaca, pois, apresenta alto potencial poluidor. Considerando o grande número de empresas que lançam seus efluentes sem nenhum tipo de tratamento nos cursos d'água, a contribuição dessas indústrias, em termos de poluição hídrica é bastante expressiva, principalmente com relação à carga orgânica. O problema é agravado se for considerado que 90% dos laticínios, em funcionamento, são de pequeno e médio porte, não possuindo profissionais qualificados para lidar com as mudanças necessárias à implementação de tecnologias limpas e com a operação de sistemas de tratamento de efluentes (MENDES, *et al.*, 2005).

A digestão anaeróbia é um processo biológico no qual uma complexa comunidade de microrganismos atua na conversão de matéria orgânica em dióxido de carbono e metano, de forma estável e auto-regulável (LETTINGA *et al.* 1996). Este processo é reconhecidamente

recomendado uma das alternativas para tratamento de águas residuárias altamente concentradas (RAJESHWARI *et al.* 2000).

No entanto, é sabido que os problemas da digestão anaeróbia aplicada a efluentes de laticínios ocorrem em função de dois fatores: inibição da biomassa e expulsão de lodo em reatores com biomassa suspensa. Entretanto, uma vez que, os processos inibitórios sejam contornados, a retenção da biomassa nos reatores passa ser o fator limitante coisa mais importante.

Os reatores que operam em batelada são particularmente adequados para o tratamento de efluentes de laticínios, pois seus processos característicos são em batelada. Zaiat *et al.* (2001) frisam a adequação de reatores desse tipo para indústrias que lançam efluentes de forma intermitente ou atividades que geram efluentes apenas em algumas épocas do mês ou ano, que trabalham com padrões de lançamento muito restritivos ou com compostos de difícil degradação.

Diversos trabalhos têm demonstrado que reatores anaeróbios operados em bateladas sequenciais contendo biomassa imobilizada (ASBBR) são adequados para tratar efluentes de laticínios (FUZATTO *et al.*, 2009, BELANÇON *et al.*, 2010, PENTEADO *et al.* 2011). O desempenho do sistema está intimamente ligado às condições de agitação, que garantem não apenas mistura e melhora a transferência de massa, mas também melhora a solubilização da matéria orgânica suspensa (PENTEADO *et al.*, 2011). Nos reatores anaeróbios em escala piloto ou plena, a agitação do meio líquido é geralmente feita através da recirculação do biogás produzido ou da recirculação do meio líquido (ZAIAT *et al.*, 2001).

Acredita-se que o estudo dessa configuração em escala piloto em muito contribui para a área de estudos, e que através do aprofundamento do conhecimento do seu funcionamento e fenômenos envolvidos, por meio da determinação de metabólitos intermediários e da verificação de características importantes da microbiota envolvida, será possível oferecer tecnologia

inovadora de forma segura para a mitigação do impacto causado por este importante setor da indústria brasileira.

2. OBJETIVOS

O objetivo central deste estudo foi avaliar as condições de operação um reator anaeróbio contendo biomassa imobilizada, operado em bateladas sequenciais (ASBBR), agitado por recirculação, tratando efluentes de um laticínio de pequeno porte.

2.1. Objetivos específicos

Avaliar a influência da velocidade de recirculação da fase líquida sobre o desempenho do ASBBR quanto à remoção de matéria orgânica à estabilidade do processo;

Avaliar a microbiota atuante através de análises de biologia molecular e atividade metanogênica específica frente ao aumento da velocidade de recirculação.

Avaliar a influência do regime de alimentação na eficiência de remoção de matéria orgânica e na estabilidade do processo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Efluentes de Laticínios: Características e Problemática

A água é utilizada em todas as etapas da indústria de laticínios, incluindo a limpeza, resfriamento, aquecimento, higienização e lavagem do piso. Em geral, os resíduos da indústria de processamento do leite contêm elevadas concentrações de material orgânico, como proteínas, carboidratos, lipídios, e de sólidos em suspensão, resultando em elevados valores de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO). Os laticínios são também caracterizados por grandes flutuações nas vazões emitidas de efluentes, o que ocorre em função da descontinuidade nos ciclos de produção de diferentes produtos.

Diariamente, milhares de metros cúbicos de efluente são gerados pelas indústrias de laticínios. A natureza desses efluentes provenientes consiste, basicamente, de quantidades variáveis de leite diluído, materiais sólidos flutuantes, finos de queijo, gorduras (graxas), produtos de limpeza (detergentes, desinfetantes e sanitizantes) e esgoto doméstico. Estes efluentes, devido a sua característica orgânica, quando atingem os corpos de água em situações-limite provocam grande mortandade de peixes. Por apresentar grande impacto ambiental ao lançar seus efluentes e resíduos sem tratamento prévio ao meio ambiente, e em função da relevância deste setor industrial, percebe-se, pois, a necessidade de se dar um destino adequado aos efluentes oriundos desta atividade (SARAIVA, 2008).

Segundo Vourch *et al.* (2008), a cada litro de leite processado são gerados de 0,2 a 10L de efluentes. Com elevada concentração de matéria orgânica, esses efluentes podem criar sérios problemas nos sistemas de tratamento de esgotos, como observado por Bough e Swientek (1981). Normalmente, os efluentes advindos dos laticínios são muito mais concentrados do que os esgotos domésticos. (PERLE *et al.*, 1995).

Dentre os efluentes emitidos pelos laticínios, o soro merece destaque, principalmente em pequenas unidades produtivas, onde seu aproveitamento pode não ser desejado, possível ou viável economicamente. O soro é um subproduto do processamento de queijo, da caseína e de outros produtos de leite acidificado. Em média, para fabricação de 1 kg de queijo são necessários de 10 litros de leite, com geração de 9 kg de soro. Assim, de 75 a 85 % do volume do leite destinado à fabricação de queijos resultam em soro, que contém a metade do extrato seco do leite (PAOLUCCI, 1991). Considerando a produção brasileira de queijo em 2006, mais de 5000 toneladas de soro foram obtidas, o que pode ser considerado sério problema ambiental (ZACARCHENCO *et al.*, 2008). O soro é um dos efluentes líquidos que mais contribuem para a alta carga poluidora das indústrias de laticínios. Outro subproduto da indústria láctea é o leitelho originado da fabricação de manteiga e a sua composição é semelhante a do leite desnatado, todavia a maior quantidade de proteínas e de fosfolipídios é derivada da membrana do glóbulo de gordura (MISTRY *et al.*, 1996).

O efluente gerado, na manufatura de leite, apresenta valores de DQO em torno de 3000 mg/L. Em casos em que há uma grande produção de queijos e derivados, o valor de DQO pode chegar a ser superior a 50000 mg/L (GAVALA *et al.*, 1999).

3.2. Digestão Anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo bioquímico que ocorre na ausência de oxigênio molecular em ambientes nos quais populações de microrganismos interagem estreitamente e realizam os processos metabólicos de fermentação e respiração (MOSEY, 1983; CHERNICHARO, 1997). Na fermentação, a matéria orgânica é oxidada na ausência de um aceptor final de elétrons. Na respiração são utilizados aceptores inorgânicos de elétrons, como íons nitrato e sulfato ou gás carbônico para a formação de metano, ocorrendo então metanogênese. Esta rota metabólica ocorre preferencialmente em ambientes onde oxigênio, nitrato e sulfato não estejam prontamente disponíveis como aceptores de elétrons, pois na presença destes compostos a matéria orgânica é oxidada por meio de processos aeróbios ou anóxicos (CHERNICHARO, 1997).

A digestão anaeróbia é um processo ecológico delicadamente balanceado envolvendo passos metabólicos complexos que acontecem em etapas sequenciais, que dependem da atividade de, no mínimo, três grupos fisiológicos de microrganismos: as bactérias fermentativas (ou acidogênicas), bactérias sintróficas (ou acetogênicas) e microrganismos metanogênicos (LETTINGA *et al.*, 1996).

Cerca de 70 a 90% do material orgânico biodegradável presente no efluente é, em média, convertido em biogás nos sistemas anaeróbios, sendo então o biogás formado retirado da fase líquida, deixando o reator na forma gasosa. Apenas cerca de 5 a 15% do material orgânico é convertido em biomassa microbiana, constituindo o lodo excedente do sistema, que geralmente, é mais concentrado e com melhores características de desidratação do que o mesmo material advindo de processos aeróbios. O restante da matéria orgânica, cerca de 10 a 30%, não é convertida em biomassa ou em biogás, e deixa o reator como fração residual (CHERNICHARO, 2001).

O processo anaeróbio pode ser subdividido em várias rotas metabólicas, e é apresentado

simplificadamente na Figura 1.1, que ilustra suas principais etapas sequenciais: acidogênese, acetogênese e metanogênese. Tais etapas são descritas detalhadamente a seguir e suas equações químicas apresentadas na Tabela 1, sucintamente com a comparação termodinâmica de tais etapas.

Figura 1.1: Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos em digestão anaeróbia (adaptado de Lettinga *et al.*, 1996)

I. Acidogênese: A matéria orgânica complexa é hidrolisada. Bactérias acidogênicas fermentam monômeros orgânicos resultantes da hidrólise produzindo ácidos orgânicos (acético, propiônico e butírico). Segundo Aquino & Chernicharo, (2005), como os microrganismos

fermentativos não dispõem, em condições anaeróbias, de um aceptor final de elétrons como o oxigênio, os ácidos orgânicos são reduzidos a acetato, propionato e butirato além de formiato, etanol, dióxido de carbono e hidrogênio.

II. Acetogênese: Microrganismos sintróficos produzem acetato, hidrogênio e dióxido de carbono a partir de propionato e butirato. Tais compostos não são substratos para as arqueias metanogênicas, daí a importância desta etapa para a ocorrência equilibrada do processo todo.

III. Metanogênese: Em reatores para o tratamento de efluentes, esta etapa é realizada por dois tipos de microrganismos, os metanogênicos acetoclásticos e os hidrogenotróficos. Os primeiros convertem acetato em gás metano através de processo fermentativo. Já os hidrogenotróficos, produzem metano a partir da redução de dióxido de carbono ou formiato, através de processo respiratório. (MADIGAN *et al.* 1997)

Tabela 1.1– Comparação termodinâmica de algumas reações comuns na degradação anaeróbia adaptada de Aquino & Chernicharo (2005).

Etapa	Reação	$\Delta G'$
Acidogênese	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + 2CO_2 + 2H^+ + 4H_2$	- 206kJ/reação
(I)	glicose acetato	
		- 358kJ/reação
	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2CH_3CH_2OO^- + 2H_2O + 2H^+$	
	glicose propionato	- 255kJ/reação
	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2CH_2OO^- + 2CO_2 + H^+ + 2H_2$	
	glicose butirato	
Acetogênese	$CH_3CH_2OO^- + 3H_2O \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$	+ 76,1 kJ/reação
(II)	propionato acetato	
	$CH_3CH_2OO^- + 2HCO_3^- \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ +$	+ 72,2 kJ/reação
	propionato acetato	
	$3HCOO^-$	
	$CH_3CH_2CH_2OO^- + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$	+ 48,1 kJ/reação
	butirato acetato	
Metanogênese	$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$	- 31 kJ/reação
(III)	acetato metano	
	$H_2 + \frac{1}{4}HCO_3^- + \frac{1}{4}H^+ \rightarrow \frac{1}{4}CH_4 + \frac{3}{4}H_2O$	- 33,9kJ/reação
	hidrogênio metano	
	$HCOO^- + \frac{1}{4}H_2O + \frac{1}{4}H^+ \rightarrow \frac{1}{4}CH_4 + \frac{3}{4}HCO_3^-$	- 32,6 kJ/reação
	Formiato metano	

Uma das limitações encontradas na utilização de processos anaeróbios é a presença de gorduras nos efluentes, principalmente se há intenção de produção de biogás. Perle *et al.*,

(1995) investigaram a influência da presença de alguns compostos como a caseína e a gordura do leite e seus intermediários de degradação na eficiência do processo anaeróbio. A gordura do leite foi considerada uma das principais causas da inibição da atividade metanogênica e teve grande influência imediata sobre a redução da taxa de produção de gás em reatores nos quais foi adicionada. Segundo os autores, processos de tratamento por digestão anaeróbia para efluentes de laticínios somente devem ser feitos após redução da concentração da gordura do leite abaixo de 100 mg/L.

A influência das quantidades de gorduras, proteínas e carboidratos na biodegradabilidade anaeróbia de efluentes de laticínios foi também estudada por Vidal *et al.* (2000), que testaram duas águas residuárias sintéticas, uma rica em gorduras (gorduras/proteínas/carboidratos: 1,7/0,57/1) e outra com baixo teor de gorduras (gorduras/proteínas/carboidratos: 0,05/0,54/1). A degradação anaeróbia do resíduo rico em gordura foi mais lenta do que do resíduo rico em carboidratos, todavia o ocorrido impediu o acúmulo de ácidos graxos voláteis, o que favoreceu o processo geral.

Diversos problemas como colmatção de leitos fixos, desagregação e expulsão de biomassa em reatores granulares são relatados na literatura (PETRUY E LETTINGA, 1997). A presença dos intermediários da degradação de lipídeos também é apontada por Alves *et al.* (2000) como inibidora da metanogênese, sendo que Hwu e Lettinga (1997) colocam que a acetogênese também é limitada em função da presença dessas moléculas. Em contrapartida, Demirel *et al.* (2005) em uma extensa revisão da aplicação da digestão anaeróbia para o tratamento de efluentes conclui que apesar dos problemas encontrados, a digestão anaeróbia de efluentes de laticínios é factível de maneira equilibrada e vantajosa para as indústrias que a praticam.

Alves *et al.* (2009) afirmam que a produção de metano a partir de lipídeos, em escala industrial, sem sobrecarregar o sistema, ou inibir o processo, ainda é um desafio. Até o momento,

efluentes contendo altas concentrações de lipídeos não foram tratados de maneira equilibrada e eficiente em reatores anaeróbios de alta taxa. Os efluentes lipídicos, todavia, são ideais para a produção de biogás, uma vez que 1,425L de biogás são produzidos a cada grama de lipídeo consumido, enquanto que as mesmas massas de carboidratos e proteínas, produzem, respectivamente, 0,830L e 0,921L.

3.3. Reatores anaeróbios para o tratamento de efluentes de laticínios

As diversas características favoráveis da tecnologia anaeróbia como baixa produção de sólidos; baixo consumo de energia; baixos custos de implantação e operação; tolerância a elevadas cargas orgânicas; e possibilidade de operação com elevados tempos de retenção de sólidos aliados a baixos tempos de detenção hidráulica, conferem aos reatores anaeróbios grande potencial e aplicabilidade no tratamento de águas residuárias concentradas e diluídas (CHERNICHARO, 1997).

Aquino e Chernicharo (2005) apontam que o uso dessa tecnologia torna-se ainda mais atrativo no Brasil devido às condições climáticas, e de fato o país assume posição de vanguarda no cenário mundial em relação à aceitação e disseminação de reatores anaeróbios, em especial dos reatores de manta de lodo.

Levando-se em consideração a baixa taxa de crescimento dos microrganismos metanogênicos, o principal objetivo quando se projeta um reator anaeróbio é obter tempo de retenção celular elevado e possibilitar mistura que assegure contato efetivo entre os microrganismos presentes e o substrato a ser metabolizado (GROBICKI e STUCKEY, 1991).

A eficiência de um reator UASB em escala laboratorial utilizando substrato semelhante aos efluentes de laticínios foi avaliada por Campos *et al.* (1994). Quando descartado o soro, foram obtidas eficiências de 24%, 39%, 52% e 43% na remoção de DQO total e 22%, 17%,

17% e 22% na remoção de sólidos totais para os tempos de detenção hidráulica de 12, 16, 18 e 20 horas, respectivamente.

Nadais *et al.* (2000) verificaram o desempenho de um reator UASB de 6 L operado de modo intermitente, a 35°C, no tratamento de efluente de laticínios. A operação de modo intermitente consistia em um período de alimentação de 48 horas, seguidos de 48 horas sem alimentação para a estabilização da matéria orgânica retida ou adsorvida no leito de lodo. Inicialmente, o reator foi operado durante 20 dias com carga orgânica volumétrica (COV) de 12 gDQO/L.d e TRH de 12 horas. O modo de operação intermitente permitiu uma remoção de DQO de 93% e uma conversão de DQO a metano de 74%. Na operação contínua, com o mesmo TRH e COV de 4,5 gDQO/Ld, foi possível obter uma percentagem de remoção de DQO similar, mas somente 40% do DQO removido foi convertido em metano.

Gomes *et al.* (2011) obtiveram excelentes resultados de remoção de matéria orgânica em reator UASB híbrido com cargas orgânicas variando de 1 gDQO.L⁻¹.d⁻¹ a 10 gDQO.L⁻¹.d⁻¹. Com tempo de detenção hidráulica de 24 horas, os autores verificaram eficiência média de 89% de remoção de DQO na melhor condição experimental, quando a carga aplicada foi de 8,0 gDQO.L⁻¹.d⁻¹. O lodo, todavia, passou de granular a floculento com o aumento da carga orgânica, e o leito fixo superior disposto no reator foi muito importante para a manutenção do equilíbrio do sistema.

As águas residuárias da maior fábrica de laticínios de Israel, que descarregavam cerca de 6000 toneladas de DBO por ano, foram tratadas em reatores anaeróbios para avaliar sua eficiência e identificar o fator limitante da fermentação metanogênica. Acetato e propionato, produtos da fermentação da lactose, foram os metabólitos intermediários predominantes no reservatório e suas concentrações foram fortemente dependentes da temperatura e da carga orgânica. Os efeitos combinados de temperaturas mais frias no inverno e aumento sazonal da

carga orgânica resultaram em uma diminuição da taxa de oxidação de propionato e um conseqüente acúmulo de DBO solúvel e DQO.

O tratamento biológico de um efluente sintético de laticínios contendo níveis elevados de óleos e graxas (200, 600 e 1000 mg/L) foi investigado por Leal *et al.* (2006) usando dois reatores UASB idênticos. Um reator foi alimentado com água residuária de uma etapa de hidrólise enzimática e outro com efluente bruto. Os reatores foram operados continuamente com cada concentração de gordura. O desempenho dos dois reatores foi semelhante até a concentração de 600 mg/L, no entanto, os benefícios da etapa de hidrólise tornaram-se evidentes com a maior concentração de gordura (1000 mg/L). Os resultados mostraram que os reatores UASB são capazes de operar mesmo quando alimentados com altos níveis de óleos e graxas em águas residuárias de laticínios.

NAJAFPOUR *et al.* (2006) estudaram o tratamento biológico de efluentes de laticínios em um reator híbrido denominado *Upflow anaerobic sludge-fixed film bioreactor* (UASFF reator).. O reator foi operado a 36°C e TDH de 36 e 48h. A carga orgânica foi aumentada gradualmente de 7,9 – 45,4 g/L/d. No TDH de 48h a taxa de remoção de DQO foi 97,5% e de conversão de lactose, de 98%. A maior taxa de biogás de 3,75 L/d foi obtida no TDH de 36h.

Os estudos cinéticos do processo de digestão anaeróbia de soro de queijo foram realizados em um reator UAPB (*Upflow anaerobic packed bed bioreactor*), em escala piloto, para tratamento e águas residuárias de laticínios, por NAJAFPOUR *et al.* (2006). Os autores concluíram que a produção de biogás e a tratabilidade do soro de leite utilizando o bioreator UAPB para manusear a elevada carga orgânica foram alcançadas com êxito. Houve remoção de 94,5% de DQO e 99% de lactose e maior rendimento de produção de metano no tempo de detenção hidráulica de 16 horas. Reatores operados em bateladas sequenciais para o tratamento de efluentes de laticínios

Além do reator UASB, existem na literatura diversos exemplos de utilização de reatores em batelada para o tratamento de efluentes de laticínios. A justificativa é que reatores do tipo batelada podem ser largamente empregados para o tratamento de água residuárias que constantemente estão sujeitas a mudança de carga orgânica (WILDERER; MCSWAIN, 2004). Estudos sobre o reator anaeróbio em batelada sequencial foram intensificados a partir do estudo realizado por Dague *et al.* (1992), tratando água residuária de suinocultura. Os autores observaram elevada degradação da matéria orgânica, boas características de floculação do lodo e eficiente separação dos sólidos, permitindo altos tempos de retenção celular, fatores que conferiam boa estabilidade ao processo.

A característica básica do reator operado em bateladas sequenciais consiste no preenchimento do reator com águas residuária no início do tempo de reação e esvaziamento no final do processo. O tratamento de águas residuárias nos reatores ocorre em quatro etapas: alimentação, reação, sedimentação (em reatores com biomassa suspensa) e descarga. (LAPA, 2006).

Mockaitis *et al.* (2006) estudaram a degradação de soro de leite em pó reconstituído num reator ASBR contendo biomassa granular. O reator operou com um ciclo de oito horas e efluente de concentrações de DQO iguais a 500, 1000, 2000 e 4000 mg.L⁻¹, correspondendo a cargas orgânicas volumétricas de 0,6 a 4,8 g DQO.L⁻¹.d⁻¹/m³.d. A eficiência de remoção observada manteve-se acima dos 90%. Os resultados foram obtidos com uma suplementação de alcalinidade de 50% para concentrações de 500 e 1000 mg DQO/L, e de 25% para 2000 e 4000 mg DQO/L. Os autores salientaram que o fornecimento de alcalinidade foi importantíssimo para a manutenção do equilíbrio do processo.

Com a finalidade de controlar a perda de microrganismos na operação de carga e descarga, aumentar o tempo de retenção celular e eliminar a etapa de sedimentação, foi proposta a utilização de biomassa imobilizada no interior do reator anaeróbio operado em

bateladas sequenciais, nascendo assim o ASBBR - *Anaerobic sequencing batch biofilm reator* (LAPA, 2006).

O tratamento do soro de queijo foi testado por Ratusznei *et al.* (2003), utilizando um reator anaeróbio de operado em bateladas sequenciais (ASBBR) com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano. O estudo foi realizado em ciclos de 8 horas com 200 rpm de agitação à 30°C. A eficiência média global do sistema foi de 96% de remoção de DQO , com concentrações ao final dos ciclos inferiores a 160 mg/L.

Belançon *et al.* (2010) compararam duas configurações de reatores anaeróbios (um reator UASB híbrido e um ASBBR agitado mecanicamente) tratando efluentes de laticínios. Os reatores foram alimentados com efluente oriundo da pasteurização de leite e da confecção de queijo sem segregação de soro (DQO ~ 5000 mg/L). O ASBBR apresentou eficiência média de remoção de matéria orgânica medida como DQO de 93,5% enquanto que o reator UASB híbrido apresentou eficiência de 80,1%. Além disso, houve perda de aproximadamente 18% do leite do UASB em função da flotação de grânulos, evidenciando a maior estabilidade e efetividade do ASBBR na remoção de matéria orgânica. Os autores concluíram que as formas utilizadas para a retenção de biomassa foram de fundamental importância para a manutenção da estabilidade desses sistemas ao longo do tempo. Indubitavelmente, o regime de agitação é de extrema importância em sistemas reacionais em geral. Penteado *et al.* (2009) operou um ASBBR de 3,9 L alimentado com efluentes de laticínios variando a intensidade de agitação de 0 a 500 rpm. Os autores concluíram que o aumento da agitação não só aumentou a eficiência global de remoção de matéria orgânica em termos de DQO, bruta e filtrada, mas também alterou significativamente o equilíbrio alcançado pelo processo em termos de formação e consumo de ácidos voláteis. O equilíbrio do sistema foi modificado quando se diminuiu a velocidade de agitação, muito provavelmente devido limitações cinéticas e de transferência de

massa. O tempo de ciclo de 24 horas só foi suficiente para completa remoção dos ácidos gerados quando a agitação foi mantida em 500 rpm.

Outra forma de realizar a operação de agitação é através da recirculação. Bezerra *et al.* (2007) avaliou a performance de um ASBBR agitado através de recirculação, tratando 2,5 L de soro de queijo em ciclos de 8 horas com concentrações iniciais de 1, 2, e 4 g DQO/L, o que correspondeu a cargas orgânicas aplicadas de 3, 6, e 12 g DQO/L.d. As eficiências obtidas de remoção de DQO foram 91 ± 2 ; 77 ± 2 e 66 ± 2 % para as cargas orgânicas aplicadas de 3, 6 e 12 g DQO/L.d. Além disso os autores concluíram que a aplicação de ciclos únicos de cargas orgânicas de 6, 12 e 24 g DQO/L.d não afetou a eficiência do sistema.

Lapa (2006) estudou a influência da velocidade ascensional no desempenho de ASBBR no tratamento de esgotos domésticos e verificou que o aumento da velocidade ascensional até $7,64 \text{ m.h}^{-1}$ pode resultar em melhora no desempenho do reator, todavia não observou vantagem significativa ao se elevar a velocidade ascensional para $10,19 \text{ m.h}^{-1}$.

Diante de todo exposto, a presente dissertação pretende apresentar o ASBBR como uma alternativa para o tratamento de efluentes de laticínios. Acredita-se que o estudo dessa configuração de reator possa contribuir, e que através do aprofundamento do conhecimento do seu funcionamento e fenômenos envolvidos, por meio da determinação de metabólitos intermediários e da verificação de características importantes da microbiota envolvida, será possível oferecer tecnologia viável para esse setor, colaborando com investigação de impactos ambientais causado por pequenos laticínios.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

Foi avaliada a operação em período prolongado o comportamento de um ASBBR, com volume útil de 650 L (volume total de 1000 L), tratando águas residuárias provenientes do laticínio escola da Prefeitura do Campus da Universidade de São Paulo, em Pirassununga. A carga orgânica aplicada foi variável, de acordo com o efluente lançado pelo laticínio. Foram avaliadas três condições experimentais, com ciclo de 48 horas, nas quais variou o valor da velocidade ascensional de recirculação, $0,2 \text{ m.h}^{-1}$, $3,8 \text{ m.h}^{-1}$. Com velocidade de recirculação de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$, avaliou-se o comportamento do sistema com ciclo de 24 horas, com descarga parcial de 50% e 67% do volume reacional. Ao final de cada condição, quando se verificava a estabilidade do sistema, realizaram-se amostragens temporais ao longo do tempo de ciclo para análise da concentração de substratos e metabólitos. Cabe informar que a terceira condição durou 8 meses pois ao final do terceiro mês de operação, quando seria realizada a amostragem temporal, verificou-se queda brusca na temperatura e, desta forma optou-se por estender o monitoramento desta condição. Todas estas condições experimentais podem ser observadas na Figura 4.1.

Figura 4.1. Representação das condições experimentais.

4.2. Local da montagem do experimento

O experimento foi montado na área próxima ao Laticínio Escola do Campus da USP de Pirassununga. A estação de tratamento de Efluentes do Laticínio Escola (Figura 4.2) é composta de caixa de recepção do efluente (Figura 4.2 b), tanque de sucção da bomba da estação elevatória (Figura 4.2 c), caixa de separação de água e óleo (Figura 4.2 d), tanque de equalização, tanque de correção de pH (Figura 4.2 e), um ASBR - *Anaerobic sequencing batch reactor* - e dois ASBBR, um com agitação mecânica e outro com agitação por recirculação, (figura 4.2 f), esse objeto de estudo do presente trabalho. A estação conta ainda com um reator aeróbio operado em bateladas sequenciais para tratamento terciário dos efluentes advindos do ASBR e um reator contínuo para o tratamento secundário dos efluentes.

Figura 4.2. Esquema da Instalação da Estação Experimental de Tratamento de Efluentes do laticínio escola da PUSP-P. (Adaptado MATSUMOTO *et al.*, 2012).

4.3. Reator

O reator, Figura 4.3, foi confeccionado em polietileno, constituído por cilindro com diâmetro interno de 1,0 m e altura de 1,53m, com volume total de 1 m^3 ($0,6\text{ m}^3$ de volume útil). O suporte utilizado para imobilização da biomassa foi enchimento plástico (“biobob”), Figura 4.4, preenchido com espuma de poliuretano fornecido pela Bioproj Tecnologia Ambiental Ltda. Este suporte foi confinado em um cesto cilíndrico confeccionado com chapa de inox 304 perfurada tipo moeda (abertura de 1,5 cm).

Figura 4.3. A. Representação do ASBBR (Imagem cedida pelo Prof. Dr. Rogers Ribeiro). B. ASBBR.

Figura 4.4. Meio suporte (“biobob”) utilizado no ASBBR para imobilização de Microorganismos

A alimentação e a recirculação do reator foram realizadas utilizando-se bombas centrífugas (tipo auto-escorvantes de rotor aberto marca THEBE, modelo AE2 - 1CV). Na tubulação de recirculação foi acoplado um rotâmetro que possibilitou a construção da curva de vazões da bomba utilizada para esse fim (Figura 4.5).

Figura 4.5. Curva de calibração da bomba utilizada na recirculação do ASBBR

4.4. Velocidades de recirculação

Para a partida do sistema foi utilizada velocidade ascensional $0,2 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$. Posteriormente mais duas condições de agitação foram testadas, velocidade de $3,8 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$ e $6,4 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$.

4.5. Inóculo

O inóculo foi proveniente de um reator do tipo UASB, com operação estável tratando águas residuárias de abatedouro de aves. O lodo foi totalmente desagregado através de liquidificador doméstico e mixer, e as matrizes limpas foram, uma a uma, mergulhadas no lodo desagregado e dispostas dentro do reator. Posteriormente, o reator foi preenchido com efluente diluído e permaneceu sem agitação mecânica por 72 horas.

4.6. Água residuária

A água residuária utilizada no estudo foi o efluente gerado no laticínio-escola da Prefeitura do Campus da USP de Pirassununga (PUSP-P), o qual tem capacidade de processar até 800 L de leite diariamente. A rede coletora de efluentes do laticínio não recebe nenhum aporte de esgoto sanitário. O pH foi corrigido com cal e alcalinidade foi suplementada na forma

de bicarbonato de sódio em concentração de aproximadamente $1\text{gCaCO}_3/\text{L}$, independentemente da concentração de matéria orgânica.

4.7. Métodos

4.7.1. Análises de monitoramento do processo

O processo foi monitorado através de análises de demanda química de oxigênio (DQO) de acordo com as metodologias descritas no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA/AWWA/WEF, 1998). Alcalinidade a bicarbonato e ácidos voláteis totais foram realizadas segundo as metodologias propostas por Ripley *et al.* (1986) e Dillalo e Albertson (1961), respectivamente. Foram mensurados também pH e temperatura.

4.7.2. Quantificação e Qualificação de Ácidos Voláteis Totais

A análise de ácidos voláteis foi realizada por meio de cromatografia gasosa empregando metodologia desenvolvida por Moraes *et al.* (2000), as amostras recolhidas ao longo do tempo de ciclo, foram analisadas cromatógrafo gasoso Shimadzu GC-2014, com detector de ionização de chama (FID), coluna HP INNOWAX 30m x 0,25mm x 0,25 μm de espessura de filme. O gás de arraste foi o hidrogênio (H_2) com fluxo a $2,0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, temperatura do forno foi igual a 100°C durante 3 minutos, rampa de aquecimento de $5^\circ\text{C}/\text{min}$, até 180°C , durante 5 minutos. A temperatura do detector foi de 300°C , com fluxo de ar sintético de $300\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, e fluxo de gás hélio (He) igual a $30\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. O tempo total de corrida foi de 11,4 minutos. Os resultados dos cromatogramas foram integrados e calibrados com o *Software CG Solution*. O ácido crotônico foi utilizado como padrão interno que nas condições acima teve tempo de retenção de 7,9 minutos como apresentado na tabela 4.2, que mostra os tempos de retenção dos ácidos voláteis de cadeia curta.

Tabela 4.2. Tempo de retenção dos Ácidos Graxos Voláteis (AGV)

Composto	Tempo de Retenção (min)
Ácido acético	4,1
Ácido propiônico	5,0
Ácido iso-butírico	5,3
Ácido butírico	6,0
Ácido iso-valérico	6,6
Ácido valérico	7,4
Ácido crotonico (<u>padrão interno</u>)	7,9
Ácido capróico	8,8

As curvas de calibração para cada ácido foram obtidas por regressão linear simples, antes de da análise dos ácidos. A partir das curvas foram determinados os valores do limite de detecção quantitativa , que é a concentração mínima de cada ácido que o cromatógrafo pode detectar.

Figura 4.6. Cromatógrafo Gasoso Shimadzu GC-2014.

4.7.3. Exames microbiológicos

4.7.3.1. Microscopia ótica

Os microrganismos presentes no sistema foram submetidos a análises de microscopia de luz comum e fluorescência para a verificação da presença de microrganismos metanogênicos. Essas análises foram realizadas no Laboratório de Bioprocessos do Departamento de Hidráulica e Saneamento – Escola de Engenharia de São Carlos-USP.

4.7.3.2. Avaliação da diversidade microbiana

Para análise da diversidade microbiana foi realizada técnica de reação de cadeia de polimerase (PCR) e de eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE). Para obter as amostras do material biológico dos reatores, as espumas de poliuretano foram submetidas a maceramento com bastão de vidro na presença de tampão fosfato (pH 7,0) até todo desprendimento do biofilme.

Para a extração e purificação de DNA dos microrganismos que estavam presentes na amostra do reator foi utilizado o protocolo de Griffiths *et al.* 2000. As amostras foram expostas à solução de fenol, clorofórmio e tampão, junto com a ação mecânica de ruptura celular utilizando pérolas de vidro.

O DNA purificados foram submetidos à amplificação do rRNA16S utilizando a técnica de reação da cadeia polimerase (PCR), com primers específicos para os Domínios *Bacteria* (KUDO *et al.*, 1997) e *Archaea* (HEUER *et al.*, 1997). A confirmação do PCR foi feita com gel de agarose 1,5% com marcador de peso molecular 100pb.

Para separar diferentes sequências dos segmentos de rRNA16S amplificados utilizou-se a técnica de DGGE (eletroforese em gel com gradiente desnaturante) segundo o manual da BioRad, do equipamento *The DCodeTM Universal Mutation Detection System* em gel de acrilamida com gradiente desnaturante. Utilizou-se os primers U968-f e L1401-r (com alvo na

região V6 a V8 do rRNA16S) para amplificação de microrganismos do Domínio *Bacteria*, e os primers A109(T)-f e 515-r (com alvo na região V2 a V3 do rRNA16S) para amplificação de microrganismos do Domínio *Archaea*. Os primers U968-f e 515-r foram modificados através da adição de um GC-clamp contendo 40 pb na extremidade 5' da sequência. A eletroforese ocorreu a 75V/60°C/overnight. O gel foi corado com SYBR GREEN I (Molecular Probes) e fotodocumentado, permitindo assim a avaliação do perfil da diversidade de microrganismos nas amostras através de padrão de bandas obtidas computacionalmente (MUYZER, *et al.*, 1993).

As análises de PCR e DGGE foram realizadas no Laboratório de Bioprocessos do Departamento de Hidráulica e Saneamento – Escola de Engenharia de São Carlos-USP.

4.7.3.3. Ensaios de Atividade Metanogênica Específica (AME)

Acetato de sódio com concentração de 20 mM foi utilizado como fonte carbono. Frascos de 500 mL foram incubados e atuaram como reatores. em cada um deles foram adicionados 100g de lodo, 200 mL de substrato (no caso do frasco branco, foram adicionados 200mL de água destilada), solução supersaturada de bicarbonato de sódio foi utilizada para a correção do pH, 4mL de solução de macronutrientes (Tabela 4.3), 2mL de solução de micronutrientes (Tabela 4.4), 10mL de tampão fosfato (Zehnder *et al.*, 1980) e 3 gotas de solução de rezasurina 0,5g.L⁻¹(usada como indicador da presença de oxigênio). Foi realizada também a suplementação com 1mL de solução de vitaminas (tabela 4.5) de acordo com recomendações de Steil (2000), após a adição do lodo, substrato e soluções, o sistema foi submetido a fluxo de nitrogênio (N₂) para a retirada de (oxigênio) O₂, até descoloração do meio, indicativo de anaerobiose estrita. O ensaio foi realizado a temperatura constante de 30° C, o volume produzido de metano foi quantificado por deslocamento de solução básica (NaOH 5% e azul de timol) em gasômetro contendo esferas de vidro com recheio para garantir tempo

de contato do gás com o líquido. A Figura 4.7 mostra um esquema o ensaio de Atividade Metanogênica Específica.

Tabela 4.3. Composição da solução de Macronutrientes (Zehnder *et al.* 1980)

Componente	Quantidade
NH ₄ Cl	17,0 g
KH ₂ PO ₄	3,7 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	8,0 g
MgSO ₄ .2H ₂ O	9,0 g
Água Ultrapura	q.s.p 1000mL

Tabela 4.4. Composição da solução de Micronutrientes (Zehnder *et al.*, 1980).

Componente	Quantidade
FeCl ₂ .6H ₂ O	2,00 g
H ₃ BO ₃	0,05 g
ZnCl ₂	0,05 g
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,038g
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,5 g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,05 g
AlCl ₃ .6H ₂ O	0,09 g
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,00 g
NiCl ₂ .6H ₂ O	0,092 g
Na ₂ SeO ₃ .5H ₂ O	0,164 g/
EDTA	1 g/
Resazurina	0,2 g
HCl 37%	1 mL
Água Ultrapura	q.s.p 1000mL

Tabela 4.5. Composição da solução de Vitaminas (Steil, 2000)

Componente	Quantidade
Biotina	0,002 g
Ácido fólico	0,002 g
Tiamina.HCl	0,005 g
Riboflavina	0,005 g
Ácido nicotínico	0,005 g
Pantotenato de cálcio	0,005 g
Piridoxina.HCl	0,010 g
Vitamina B12	0,0001 g
Ácido lipóico	0,005 g
Ácido p-aminobenzóico	0,005g
Água Ultrapura	q.s.p 1000mL

Figura 4.7: Representação do Ensaio de Atividade Metanogênica Específica (adaptado por Aquino *et al.* 2007).

4.8. Ajustes cinéticos

Aos valores de concentração de matéria orgânica solúvel (amostras filtradas em membrana de poro igual a 1,1 μm) ajustou-se um modelo de primeira ordem com residual (Equação 1) como realizado previamente por Cubas *et al.* (2004), Mokaitis *et al.* (2006) e Fuzzato *et al.* (2009).

$$C_S = C_{SR} + (C_{S0} - C_{SR}) \exp(-k_1^{app} t) \quad (1)$$

Quando se percebeu a presença de duas etapas de degradação de matéria orgânica adotou-se procedimento utilizado por Pinho *et al.* (2005) que utilizou dois modelos de primeira ordem em série para descrever decréscimo de matéria orgânica em ASBBR. À primeira parte dos perfis temporais (0 – 12 h) ajustou-se modelo cinético de primeira ordem considerando residual (Equação 1) e à segunda parte ajustou-se novamente modelo cinético de primeira ordem de acordo com a equação (2):

$$C_S = C_{SRf} + (C_{SR} - C_{SRf}) \cdot \exp[-k_{1,2}^{app}(t - t_0)] \quad (2)$$

Nas Equações. 1 e 2, t é o tempo (h); C_S e C_{S0} são, respectivamente, a concentração de substrato (expressa em DQO mensurada em amostras filtradas) no tempo t e t_0 (tempo inicial), assumido ser zero para Equação 1 e fixado em 12 h na Eq. 2; C_{SR} e C_{SRf} são as concentrações residuais de substrato (expressas em DQO) e k_1^{app} (h^{-1}) e $k_{1,2}^{app}$ (ambos expressos em h^{-1}) são as constantes cinéticas aparentes de primeira ordem. Todos os modelos propostos são pseudo-homogêneos e os parâmetros cinéticos são aparentes por terem sido obtidos sob influência das resistências à transferência de massa.

4.9. Análises estatísticas

Nas análises estatísticas foram adotadas duas estratégias:

(i) Para a variável concentração inicial de substrato (total e em amostras filtradas - S0_tot, S0_fil), eficiência bruta em 24 horas, eficiência filtrada em 24 horas (EB_24 e EF_24), eficiência bruta em 48 horas e eficiência filtrada em 48 horas (EB_48 e EF_48) foram realizadas análises de variância considerando modelo que contempla os seguintes efeitos:

$$y_{ij} = \mu + v_i + e_{ij}$$

em que

y_{ij} = é o valor observado para as variáveis em questão (S0_tot, S0_fil, EB_24, EF_24, EB_48 e EF_48) observadas na j-ésima repetição e que recebeu a i-ésima velocidade ascensional;

μ = constante inerente a todas às observações;

v_i = efeito fixo da i-ésima velocidade ascensional, sendo que para o S0_tot, S0_fil, E_B48 e E_F48

$i = 1(0,2 \text{ m.h}^{-1}), 2(3,8 \text{ m.h}^{-1}) \text{ e } 3(6,4 \text{ m.h}^{-1})$; para E_B24 e E_F24 $i=1(3,8 \text{ m.h}^{-1}) \text{ e } 2(6,4 \text{ m.h}^{-1})$.

e_{ij} = efeito aleatório residual associado à observação da j-ésima repetição e que recebeu a i-ésima velocidade ascensional, suposto normalmente distribuído com média 0 e variância σ^2_e .

(ii) Para avaliação das Eficiências Brutas, Eficiências Filtradas e Alcalinidade em até 48 horas foram realizadas análises de variância considerando um modelo que contempla os seguintes efeitos:

$$y_{ijk} = \mu + v_i + t_j + vt_{ij} + e_{ijk}$$

em que

y_{ijk} = é a eficiência bruta ou filtrada ou a alcalinidade observada na k-ésima repetição e recebeu a combinação do j-ésimo tempo de reação com a i-ésima velocidade ascensional;

μ = constante inerente a todas às observações;

ν_i = efeito fixo da i-ésima velocidade ascensional, sendo $i = 1(3,8 \text{ m/hora})$ e $2(6,4 \text{ m/hora})$;

τ_j = efeito fixo do j-ésimo tempo de ciclo, sendo $j = 1(24 \text{ horas})$ e $2(48 \text{ horas})$;

ν_{ij} = é o efeito fixo da interação i-ésima velocidade ascensional com o j-ésimo tempo de ciclo;

e_{ijk} = é o efeito aleatório residual associado eficiência bruta ou filtrada ou a alcalinidade observada na k-ésima repetição e que recebeu a combinação do j-ésimo tempo de ciclo com a i-ésima velocidade ascensional, suposto normalmente distribuído com média 0 e variância σ^2_e .

Em caso de efeito significativo para alguma fonte de variação, as médias foram comparadas, utilizando o Teste de *Tukey*, todas as análises foram realizadas com auxílio do programa *Statistical Analysis System*, versão 9.1.3.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste item serão apresentados e discutidos os resultados obtidos no presente trabalho, conforme as condições operacionais estudadas. Inicialmente a discussão será acerca dos resultados referentes ao estudo da influência da velocidade ascensional, que ocorreu através da condução de três condições operacionais. Será realizada então a comparação entre estas três condições, que teve em comum o tempo de ciclo. Neste item de comparação serão também apresentados e discutidos os resultados referentes ao estudo da microbiota envolvida. Por fim serão apresentados os dados referentes ao estudo da variação de volume residual com tempo de ciclo de 24 horas.

5.1. Estudo da influência da velocidade ascensional na eficiência do sistema

5.1.1. Operação com velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$

O reator foi inoculado e operado em batelada sequencial, tratando águas residuárias do Laticínio da PUSP-P com concentração variada de matéria orgânica, com ciclos de 48 horas. Tal condição foi analisada por 89 dias.

A biomassa se adaptou rapidamente ao efluente, o que foi evidenciado pela elevada eficiência do sistema, atingida decorridos apenas 9 dias de operação. Após 60 dias, o sistema adquiriu estabilidade, apresentando eficiência média de remoção de DQO de $83 \pm 11\%$, sendo considerado esse o período necessário para a partida.

Na Figura 5.1 são apresentados os valores de DQO mensurados no afluente e efluente do sistema. Percebe-se que tanto para as amostras brutas (Figura 5.1A) quanto para as filtradas (Figura 5.1B), mesmo com grande amplitude nos valores de concentração de matéria orgânica expressa em DQO verificada no afluente, (valor máximo de 8014 mg.L^{-1}), existe uniformidade

nos valores mensurados no efluente. Os valores de DQO foram em média $504 \pm 404 \text{ mg.L}^{-1}$ para as amostras filtradas e $639 \pm 528 \text{ mg.L}^{-1}$ para as amostras brutas.

Figura 5.1- A: Concentração de matéria orgânica expressa em DQO (mg.L^{-1}) no afluente bruto (▲) e efluente bruto (□); B: Concentração de matéria orgânica expressa em DQO (mg.L^{-1}) no afluente filtrado (○) e efluente filtrado (◆) em ASBBR operado com quando a velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$.

Na Figura 5.2, pode-se verificar que os valores de alcalinidade a bicarbonato das amostras de efluente na maioria do tempo aumentam em relação aos valores do afluente. Tal

comportamento, segundo Speece (1996) reflete a estabilidade do sistema e é relacionado à geração e consumo de ácidos, como pode ser observado na Figura 5.3.

Figura 5.2- Alcalinidade a bicarbonato (mg.L⁻¹ CaCO₃) das amostras de afluentes (◆) e efluentes (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 0,2 m.h⁻¹.

Ao se analisarem as concentrações de ácidos voláteis mensuradas na entrada e saída do sistema (Figura 5.3), pôde-se observar que, apesar da grande variação da acidez nas amostras de afluente, as amostras de efluentes apresentaram uniformidade e, com exceção de uma amostra, as concentrações efluentes foram sempre inferiores às mensuradas na entrada do sistema. Tal fato se deve ao grande consumo de ácidos, por parte dos microorganismos, o que confirma o bom andamento do processo.

Figura 5.3- Acidez total (mg.L^{-1}) das amostras de afluentes (●) e efluentes (□) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$.

Na Tabela 5.1 são apresentados os valores de pH mensurados no afluente e no efluente do sistema. Segundo Foresti (1994), a faixa ótima de pH para o bom funcionamento do sistema deve estar entre 6,6 e 7,4. A partir deste dado, pode-se verificar que tanto nas amostras de afluente quanto nas amostras de efluentes os valores pH estiveram dentro da faixa considerada ótima. Ainda na mesma tabela é possível visualizar o comportamento do sistema em relação à concentração de nitrogênio total e amoniacal. Como previsto, ocorreu pouco consumo de nitrogênio total, em função da conversão do nitrogênio orgânico à amoniacal, haja vista que processos anaeróbios não são eficientes para a remoção de nitrogênio.

Tabela 5.1. Valores médios das variáveis monitoradas na operação com velocidade ascensional de recirculação de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$

Parâmetro		Afluente	Efluente
DQO (mg.L^{-1})	Bruta	3726 ± 1816	639 ± 528
	Filtrada	2786 ± 1614	504 ± 404
pH		$6,91 \pm 0,43$	$7,30 \pm 0,26$
AB(mg.L^{-1})		787 ± 759	1671 ± 1065
AT(mg.L^{-1})		1988 ± 1412	2236 ± 1405
Acidez(mg.L^{-1})		736 ± 361	192 ± 146
N-NTK(mg.L^{-1})		65 ± 19	54 ± 23
N-NH ₄ (mg.L^{-1})		18 ± 16	43 ± 15

AB - Alcalinidade a Bicarbonato, AT - Alcalinidade Total, N-NTK -Nitrogênio Total Kjeldahl, N-NH₄⁺ - Nitrogênio Amoniacal.

Depois de verificada a estabilidade do sistema, foram realizadas amostragens ao longo do tempo de ciclo. Na Figura 5.4, encontram-se os valores de DQO ao longo do ciclo. Pode-se observar que a concentração de matéria orgânica expressa em DQO diminui, apresentando mesmo comportamento verificado por Fuzatto *et al.* (2009) e Penteado *et al.* (2011) operando sistema semelhante em escala de bancada, que também verificaram diminuição na velocidade de decaimento de substrato durante o período no qual a concentração de ácidos voláteis era mais elevada. No presente trabalho é possível verificar esse comportamento, relacionando-o não só com a concentração de ácidos (Figura 5.4), mas também com os valores de pH (Figura 5.5).

Figura 5.4. Amostragem temporal de matéria orgânica expressa em DQO total (◆) e em amostras filtradas (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.

Dois modelos cinéticos de primeira ordem com residual em série foram ajustados aos dados com bons coeficientes de correlação, como previamente realizado por Pinho *et al.* (2005) que utilizou a mesma metodologia para modelagem do decaimento de DQO em tratamento anaeróbio de efluentes de granjas suínas em ASBBR de bancada agitado mecanicamente. O mesmo comportamento foi verificado por Penteado *et. al* (2010), todavia, em função de maiores concentrações acumuladas de ácidos, os autores verificaram reação de ordem zero na segunda parte do perfil. No presente estudo foi observado valor de k_1^{ap} de $1,2\text{h}^{-1}$ para a primeira parte do ciclo (até a 12ª hora de processo) e de $0,07\text{h}^{-1}$ para a segunda parte. A descontinuidade do modelo foi coincidente com os picos verificados de ácidos voláteis. Em função disso, verificou-se valor de constante de primeira ordem, muito inferior para a segunda equação ajustada.

Os valores obtidos de pH (Figura 5.5) ao longo do mesmo período de 48 horas se mantiveram dentro da faixa considerada ótima por Foresti (1994), o que indica o bom funcionamento do sistema, provavelmente graças ao fornecimento inicial de alcalinidade, que

segundo Ratuzsnei *et al.* (2003), é condição indispensável para o bom funcionamento de reatores anaeróbios operados em bateladas sequenciais tratando efluentes de laticínios.

Figura 5.5. Amostragem temporal de pH em ASBBR operado com a velocidade ascensional de 0,2 m.h⁻¹ em um período de 48 horas.

Analisando os valores de alcalinidade durante o período de 48 horas (Figura 5.6), verifica-se a tendência de ligeiro aumento ao longo do tempo. Tal fato, segundo Speece (1996) indica estabilidade do processo e explicita que, apesar de grandes concentrações de ácidos, a metanogênese ocorreu plenamente.

Figura 5.6. Amostragem temporal de alcalinidade a bicarbonato (mg.L⁻¹ CaCO₃) em ASBBR operado com a velocidade ascensional de 0,2 m.h⁻¹ em um período de 48 horas.

As Figuras 5.7 e 5.8 apresentam o perfil temporal de concentrações de ácidos voláteis totais, e seus componentes, mensurados por cromatografia mostram o consumo de ácidos. É importante ressaltar a similaridade de comportamento dos dados e o evidente consumo de tais moléculas. Cabe também comentar que os ácidos em maiores concentrações foram o acético e propiônico assim como verificaram Fuzzato *et al.* (2009) em escala de bancada. Os mesmos ácidos foram verificados por Penteado *et al.* (2011), quando operou ASBBR de bancada com agitação variável. Os autores verificaram predominância de ácido acético e propiônico somente para as condições nas quais se verificaram maiores eficiências de remoção de matéria orgânica, que foram condições com agitação de 350 rpm e 500 rpm.

Figura 5.7 Amostragem temporal de acidez total (mg.L⁻¹ CaCO₃) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 0,2 m.h⁻¹ em um período de 48 horas.

Figura 5.8. Amostragem temporal de ácidos voláteis – ácido acético (◆), ácido propiônico (■), ácido butírico (×), ácido isobutírico (▲), ácido isovalérico (✱), ácido valérico (●), ácido capróico (+) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.

5.1.2. Operação com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$

O reator passou a ser operado com velocidade de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$, e foi monitorado nesta condição durante um período de cinco meses. Com intuito de se verificar a possibilidade de diminuição do tempo de ciclo, o sistema foi também monitorado quanto à eficiência de remoção de matéria e concentrações de alcalinidade e acidez em ciclos de 24 horas.

Decorridos 18 dias de operação, foi alcançada elevada eficiência de remoção de matéria orgânica ao final do tempo de ciclo. Os valores obtidos foram aproximadamente 91% para amostras filtradas e 85% para amostras brutas. Após 45 dias de operação o sistema apresentou eficiência média de remoção de matéria orgânica total de 90% e 92% em amostras brutas e filtradas, respectivamente. Pôde-se perceber que, como na condição anterior, houve uniformidade nos valores de DQO mensurados no efluente (Figura 5.9 A e B).

Figura 5.9- - A: Concentração de matéria orgânica expressa em DQO (mg.L⁻¹) no afluente bruto (▲) e efluente bruto (□); B: Concentração de Matéria Orgânica expressa em DQO (mg.L⁻¹) no afluente filtrado (○) e afluente filtrado (◆) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 3,8 m.h⁻¹.

Analisando-se os resultados referentes às concentrações de ácidos voláteis (Figura 5.10), foi possível verificar que apesar da grande amplitude nos valores mensurados no afluente do sistema (valor médio de 1577 ± 678 mg.L⁻¹) as amostras de efluentes apresentaram concentrações de ácidos muito inferiores e com menor variação (valor médio de 223 ± 209

mg.L⁻¹). Tal comportamento evidencia a presença de microrganismos consumidores de ácidos e formadores de metano.

Para as amostras de efluente obtidas após 24 horas de processo foi observado o mesmo comportamento, todavia o valor médio de concentração de ácidos foi de 421 ± 251 mg.L⁻¹. Tal fato demonstra que, com a velocidade ascensional estudada, o segundo dia de ciclo é importante para a finalização do processo metanogênico.

. A alcalinidade a bicarbonato (Figura 5.11) média no afluente foi de 1577 ± 678 mg.L⁻¹ e no efluente foi de 1658 ± 466 mg.L⁻¹. Também foram mensuradas as amostras dos efluentes após 24 horas de processo e para essas houve aumento na alcalinidade a bicarbonato com valor médio de 1371 ± 405 mg.L⁻¹. Tal valor também evidencia a importância do segundo dia do ciclo, uma vez que Foresti (1994) afirma que processos metanogênicos estáveis mostram produção de alcalinidade a bicarbonato.

Figura 5.11- Alcalinidade a bicarbonato (mg.L⁻¹ CaCO₃) das amostras de afluentes (◆) e efluentes (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 3,8m.h⁻¹.

Figura 5.10. Acidez total (mg.L⁻¹) das amostras de afluentes (●) e efluentes (□) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 3,8 m.h⁻¹.

Os valores de pH medidos no afluente e no efluente do sistema, estiveram dentro da faixa considerada ótima (Tabela 5.2). Novamente, ocorreu pouco consumo de Nitrogênio total, em função da conversão do Nitrogênio orgânico à amoniacal. As concentrações de Nitrogênio amoniacal não foram suficientes para prejuízo do desempenho do sistema.

Tabela 5.2. Valores médios das variáveis monitoradas na operação com velocidade ascensional de recirculação de 3,8 m.h⁻¹

Parâmetro		Afluente	Efluente (24h)	Efluente (48h)
	Bruta	4996 ± 1850	1478 ± 1013	876 ± 772
DQO (mg.L ⁻¹) - Filtrada		3478 ± 1013	1141 ± 670	522 ± 435
pH		7,14 ± 0,61	7,31 ± 0,35	7,43 ± 0,21
AB (mg.L ⁻¹)		610 ± 289	1371 ± 405	1658 ± 466
AT (mg.L ⁻¹ de CaCO ₃)		1577 ± 678	2163 ± 673	2256 ± 633
Acidez (mg.L ⁻¹)		1106 ± 442	421 ± 251	223 ± 209
N-NTK (mg.L ⁻¹)		76 ± 28	nm*	78 ± 15
N-NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)		36 ± 30	nm*	54 ± 14
ST (mg.L ⁻¹)		4122 ± 2177	nm*	3222 ± 1698
STF (mg.L ⁻¹)		2294 ± 1351	nm*	2386 ± 1197
STV (mg.L ⁻¹)		1828 ± 838	nm*	836 ± 505
Temperatura (°C)		24,83 ± 1,93	nm*	24,31 ± 2,24

AB - Alcalinidade a Bicarbonato, AT - Alcalinidade Total, N-NTK - Nitrogênio Total Kjeldahl, N-NH₄⁺ -Nitrogênio Amoniacal, ST - Sólidos totais, STF - Sólidos Totais Fixos, STV - Sólidos Totais Voláteis, nm(*) Não mensurado,.

Atingida a estabilidade operacional do sistema, avaliada pelas concentrações de matéria orgânica, de ácidos voláteis e de alcalinidade total do efluente no final do ciclo, realizou-se a amostragem temporal ao longo de uma batelada. A Figura 5.12 apresenta os resultados do perfil temporal de concentração de matéria orgânica expressa em DQO ao longo do ciclo.

Figura 5.12. Amostragem temporal de matéria orgânica expressa em DQO total (◆) e em amostras filtradas (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.

Nesta condição também foi possível o ajuste de duas equações de primeira ordem com residual em série. Os valores de K_1^{ap} foram, $1,0 \text{ h}^{-1}$ para a primeira parte do perfil e $0,4 \text{ h}^{-1}$ para a segunda parte. Novamente, assim como verificado por Penteado *et al.* (2010), a descontinuidade do perfil pôde ser relacionada às concentrações máximas de ácidos voláteis, que por sua vez, podem ter resultado na diminuição do valor de k_1^{ap} observado nas segundas partes dos perfis. Verificou-se que o valor de k_1^{ap} obtido na segunda equação ajustada foi 5,7 vezes maior que o obtido na condição experimental anterior, evidenciando que o aumento de velocidade de recirculação favoreceu o consumo e a geração de ácidos, uma vez que as concentrações acumuladas de tais substâncias foram muito superiores quando a velocidade ascensional foi de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$.

Ao analisar o perfil temporal de acidez (Figura 5.13), pôde-se observar que até a 12^a hora houve acúmulo de ácido e que a partir deste ponto ocorreu consumo até o final do ciclo, evidenciando mais uma vez o bom andamento do processo.

Figura 5.13 Amostragem temporal de acidez total (mg.L^{-1}) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.

A Figura 5.14 demonstra que novamente houve produção de alcalinidade, indicando estabilidade do processo e explicitando que, apesar de grandes concentrações de ácidos, a metanogênese ocorreu plenamente.

Figura 5.14. Amostragem temporal de alcalinidade a bicarbonato ($\text{mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.

A Figura 5.15 mostra os valores obtidos de pH ao longo período de 48 horas se mantiveram dentro da faixa considerada ótima por Foresti (1994), que indica que o sistema possuía efetivo efeito tamponante, em função da suplementação de bicarbonato.

Figura 5.15. Amostragem temporal de pH em ASBBR operado com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ em um período de 48 horas.

As amostras obtidas ao longo do ciclo foram analisadas por cromatografia gasosa e foi possível observar que a concentração de matéria orgânica expressa em DQO após 24 horas de ciclo era principalmente devida à presença dos ácidos voláteis. Nesta condição, os ácidos propiônico e acético foram muito altas no início do ciclo, todavia verificou-se consumo completo até o final das 48 horas de ciclo, como foi apresentado na Figura 5.16..

Figura 5.16.: Amostragem temporal de ácidos voláteis – ácido acético (◆), ácido propiônico (■), ácido butírico (×), ácido isobutírico (▲), ácido isovalérico (*), ácido valérico (●), ácido capríco (+) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$, em um período de 48 horas.

O aumento de velocidade não foi suficiente para aumentar a eficiência do sistema, todavia aumentou a velocidade de conversão sem desequilibrar a atividade do consórcio metanogênico.

5.1.3. Operação com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$

O reator foi operado com velocidade de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ durante um período de oito meses. O esperado era finalizar essa condição em três meses, porém devido às baixas temperaturas ambientais no final deste período (início do inverno), optou-se estender o monitoramento desta condição, na qual também foram monitoradas as concentrações de matéria orgânica alcalinidade e acidez após 24 horas de tempo de incidência. Após 9 dias de operação, foi alcançada elevada eficiência de remoção de matéria orgânica, aproximadamente 96% para amostras filtradas e 91% considerando amostras brutas ao final do ciclo de 48 horas (Figura

5.17 B). Após 65 dias de operação (período de inverno) o sistema apresentou eficiência média de remoção de matéria orgânica total de $68 \pm 18 \%$ e $72 \pm 15\%$ em amostras brutas e filtradas, respectivamente, após 24 horas de reação. No ciclo de 48 horas, esta eficiência foi de $85 \pm 9\%$ e $87 \pm 9\%$ em amostras brutas e filtradas, respectivamente. Pôde-se perceber que, apesar do sistema não se encontrar em condições ótimas de temperatura, sua eficiência manteve-se elevada, e que as últimas 24 horas de ciclo tiveram efeito muito importante na manutenção da eficiência média do sistema. A eficiência média mensurada após o período de oito meses foi de $85 \pm 9\%$

Na Figura 5.17, são apresentados os valores de DQO mensurados nos afluentes e efluentes do sistema ao longo dos ciclos de 48 horas. Mesmo com grande variação nos valores de concentração de matéria orgânica nas amostras de afluentes (com valor máximo de 12202 mg.L^{-1} de DQO), houve uniformidade nos valores das amostras de efluentes. Desta forma, verifica-se que o sistema se manteve estável em todo o período analisado.

Figura 5.17- A: Concentração de matéria orgânica expressa em DQO (mg.L⁻¹) no afluentes bruto (▲) e efluente bruto (□); B: Concentração de Matéria Orgânica expressa em DQO (mg.L⁻¹) no afluentes filtrado (○) e efluente filtrado (◆) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h⁻¹.

Na tabela 5.3 são apresentados os valores de pH dos afluentes e dos efluentes do sistema ao longo dos ciclos de 48 horas. Novamente, de acordo com Speece (1996) o sistema se manteve em condições ótimas de pH, o que proporcionou bom desempenho ao sistema.

Tabela 5.3. Valores médios das variáveis monitoradas na operação com velocidade ascensional de recirculação de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$

Parâmetro		Afluente	Efluente (24h)	Efluente (48h)
DQO (mg.L^{-1})	Bruta	5703 ± 2047	2047 ± 1326	781 ± 505
	Filtrada	4406 ± 1921	1430 ± 890	540 ± 411
pH		$7,02 \pm 0,47$	$7,44 \pm 0,23$	$7,50 \pm 0,28$
AB (mg.L^{-1})		821 ± 269	1790 ± 309	1990 ± 490
AT (mg.L^{-1} de CaCO_3)		1936 ± 530	2573 ± 501	2579 ± 600
Acidez (mg.L^{-1})		1218 ± 309	492 ± 362	234 ± 125
N-NTK (mg.L^{-1})		110 ± 46	NM*	99 ± 31
N- NH_4^+ (mg.L^{-1})		40 ± 25	NM*	68 ± 34
ST (mg.L^{-1})		6412 ± 2190	NM*	4203 ± 1192
STF (mg.L^{-1})		3610 ± 1169	NM*	3384 ± 933
STV (mg.L^{-1})		2802 ± 1124	NM*	819 ± 324

(*) NM – Não mensurado, AB - Alcalinidade a Bicarbonato, AT - Alcalinidade Total, N-NTK -Nitrogênio Total Kjeldahl, N- NH_4^+ -Nitrogênio Amoniacal, ST - Sólidos totais, STF - Sólidos Totais Fixos, STV - Sólidos Totais Voláteis.

Através dos resultados de concentração de ácidos voláteis totais (Figura 5.18), foi possível verificar que as amostras de efluentes apresentaram concentrações de mais baixas de ácidos comparadas às de afluentes e com pouca variação. Nas amostras coletadas após 24 horas foi observado o mesmo comportamento, todavia, em média consumo de $234 \pm 125 \text{ mg.L}^{-1}$ no segundo dia do ciclo. Novamente percebeu-se que apesar de pouca conversão nas últimas 24 horas, em relação ao primeiro dia de ciclo, verifica-se grande diminuição de ácidos voláteis, fato importante quando se considera também a produção metanogênica.

Figura 5.18- Acidez (mg.L^{-1}) das amostras de afluentes (●) e efluentes (□) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$.

Como consequência do consumo de ácidos, pôde-se verificar na Figura 5.19, que houve aumento dos valores de concentração de alcalinidade a bicarbonato nas amostras de efluente em relação às amostras de afluentes do sistema. A alcalinidade a bicarbonato média no afluente foi de $821 \pm 269 \text{ mg.L}^{-1}$ e no efluente foi de $1990 \pm 490 \text{ mg.L}^{-1}$. Nas amostras coletadas após 24 horas de reação também houve aumento na alcalinidade total com valor médio de $1790 \pm 309 \text{ mg.L}^{-1}$, diferentemente do que se observou na condição anterior. Tal fato evidencia benefício do aumento da velocidade de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ para $6,4 \text{ m.h}^{-1}$.

Figura 5.19- Alcalinidade a bicarbonato ($\text{mg.L}^{-1} \text{CaCO}_3$) das amostras de afluentes (◆) e efluentes (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$.

Como era esperado, ocorreu pouco consumo de nitrogênio total, em função da conversão do nitrogênio orgânico à amoniacal, e as concentrações de nitrogênio amoniacal não foram suficientes para prejuízo do desempenho do sistema.

A Figura 5.20 mostra o perfil de decaimento de substrato ao longo do tempo de ciclo nesta condição operacional. Pode-se verificar que a DQO inicial mensurada foi cerca de 50% da medida nas outras condições operacionais. Tal fato ocorre em função da variação nas operações ocorrentes no laticínio escola, sendo importante mencionar que a coleta foi realizada no mesmo dia da semana em que foram realizadas as anteriores. O ajuste cinético realizado demonstra que com fator de correlação de 0,89, o modelo que melhor descreveu o processo foi o de primeira ordem com residual, como verificou Fuzzato *et al.* (2009), com carga aplicada semelhante. O modelo não apresentou descontinuidade como foi verificado por Penteado *et al.* (2010), e também na primeira condição estudada neste trabalho, muito provavelmente em função da baixa concentração de DQO no início do ciclo. A constante cinética aparente de

primeira ordem obtida nessa etapa de estudo foi de $0,08 \text{ h}^{-1}$, valor semelhante ao obtido na segunda parte do perfil realizado na primeira condição operacional ($0,07 \text{ h}^{-1}$), quando a concentração de DQO era semelhante à inicial mensurada na atual condição experimental.

Figura 5.20. Amostragem temporal de matéria orgânica expressa em DQO total (■) e em amostras filtradas (●) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$, em um período de 48 horas.

Nas Figuras 5.21 e 5.22 encontram-se os valores de alcalinidade a bicarbonato e acidez mensurados ao longo do tempo de ciclo. Percebeu-se novamente geração e posterior consumo de ácidos voláteis e produção constante de alcalinidade.

Figura 5.21. Amostragem temporal de alcalinidade a bicarbonato (mg.L⁻¹ CaCO₃) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h⁻¹, em um período de 48 horas.

Figura 5.22 Amostragem temporal de acidez (mg.L⁻¹) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h⁻¹, em um período de 48 horas.

O comportamento do pH (Figura 5.23) ao longo do mesmo período de 48 horas se manteve dentro da faixa considerada ótima, o que indica o bom funcionamento do sistema.

Figura 5.23. Amostragem temporal de pH em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4\text{m.h}^{-1}$, em um período de 48 horas.

Na Figura 5.24 estão apresentados os dados de ácidos graxos voláteis (AGV), obtidos por cromatografia gasosa. Na amostragem temporal é possível verificar a presença dos ácidos acético, propiônico, butírico e valérico, no entanto, como já observado, novamente observou-se predominância dos ácidos propiônico e acético. Pode-se notar que, com o decorrer do tempo de ciclo, todos os ácidos são completamente consumidos. Vale ainda salientar que, provavelmente em função dos baixos valores de concentração inicial de matéria orgânica e de ácidos voláteis, o completo consumo dos ácidos ocorreu em 24h.

Figura 5.24: Amostragem temporal de ácidos voláteis – ácido acético (◆), ácido propiônico (■), ácido butírico (×), ácido isobutírico (▲), ácido isovalérico (*), ácido valérico (●), ácido capróico (+) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$, em um período de 48 horas

5.1.4. Comparação entre as condições referentes à velocidade

A Figura 5.25 mostra a comparação entre as médias das eficiências obtidas nas três condições experimentais testadas com 48 horas de tempo de ciclo e com 24 horas de tempo de reação para os valores das velocidades ascensionais foram $3,8$ e $6,4 \text{ m.h}^{-1}$.

Os valores de concentração de matéria orgânica no efluente fornecido ao sistema foram em torno de $3,7 \pm 1,8 \text{ g.L}^{-1}$, $5,5 \pm 1,8 \text{ g.L}^{-1}$ e $5,2 \pm 2,0 \text{ g.L}^{-1}$ quando a velocidade ascensional foi de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$, $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ e $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ respectivamente. Não foram verificadas diferenças significativas entre as eficiências de remoção de matéria orgânica total ou em amostras filtradas, todavia em função da comparação dos valores de desvios padrões, percebeu-se claramente aumento da uniformidade nos valores de eficiência ao longo das condições operacionais. Tal fato é evidente na Figura 5.25. Quando comparados os valores médios de eficiências obtidos com 24 horas de reação e 48 horas de tempo de ciclo foi possível verificar diferença significativa ($p < 0,01$), tendo sido tal diferença obtida independentemente do valor de velocidade ascensional aplicada. Tratando esgoto sanitário em configuração idêntica de

reator, com tempo de ciclo de 8h Lapa (2006) também não verificou diferenças significativas nas eficiências observadas em faixas de velocidade semelhante à estudada no presente trabalho. Alcalinidade a bicarbonato foi produzida sem diferenças significativas em todas as condições operacionais.

Figura 5.25: Comparação entre valores de eficiência nas condições estudadas (Box Plot).

A Figura 5.26 apresenta o monitoramento da eficiência na remoção de matéria orgânica nas três condições citadas ao longo de todo o período estudado, é possível notar que o ASBBR foi eficiente na remoção de matéria orgânica ao longo de todo tempo. Com eficiências médias para amostras brutas de $84 \pm 10\%$ e para amostras filtradas de $84 \pm 11\%$. Pode-se observar que existem pontos estão fora da média, isso ocorre devido a problemas técnicos no sistema. Vale salientar que na referida Figura, os dias de operações são apresentados ininterruptamente, no entanto ao longo monitoramento, problemas ocorreram e causaram paradas no sistema, que levaram a diminuição da eficiência do ASBBR. Essas dificuldades são apontadas como defeito e manutenção da bomba de captação de efluentes, dias muito frios, recesso do Laticínio-escola, limpeza da caixa de gordura. Todavia é válido ressaltar que apesar dessas ocorrências o reator em um período curto de tempo melhorava seu desempenho, retornando a eficiências mais elevadas.

Figura 5.26.. Eficiência na Remoção de matéria orgânica nas condições estudadas, em ASBBR com velocidade ascensional de 0,2; 3,8 e 6,4 m.h⁻¹. Eficiência Bruta (◆) e Filtrada (○).

5.1.4.1. Análises de microscopia ótica

O inóculo mostrou abundância de morfologias semelhantes à *Methanosaeta sp*, *Methanosarcina sp*, cocos, bacilos não fluorescentes (Figura 5.27) e em menor frequência relativa, bacilos fluorescentes. Após o período de partida e a primeira condição estudada foi possível verificar novamente abundância de morfologias semelhantes à *Methanosaeta sp*, *Methanosarcina sp*, cocos e bacilos não fluorescentes. Em menor frequência também se verificou presença de bacilos fluorescentes. Nas duas últimas condições operacionais não foram verificados microrganismos fluorescentes. Apesar disso, segundo Foresti (1994), o consumo de propionato evidencia que as pressões parciais de hidrogênio eram baixas no interior do reator, fato só possível através da transferência de hidrogênio inter-espécies, o que segundo Stams (1994) é fundamental para a manutenção do equilíbrio do consórcio metanogênico.

Figura 5.27. Observações morfológicas sob microscopia de contraste de fase e epifluorescência referentes ao inóculo do sistema – morfologias semelhantes à *Methanosaeta sp* (A) e *Methanosarcina sp* (B).

Figura 5.28. Observações morfológicas sob microscopia de contraste de fase referentes a amostras do ASBBR, morfologias semelhantes a (A) microrganismos fluorescentes, na condição operacional de velocidade ascensional $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ (B) *Methanosaeta* sp. em ASBBR operado com velocidade ascensional $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ (C) *Methanosaeta* sp. em ASBBR operado com velocidade ascensional $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ (D) Bacilos em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$.

5.1.4.2. Técnica de reação de cadeia de polimerase (PCR) e de eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE)

A Figura 5.29 apresenta o dendograma resultante das análises de PCR-DGGE realizadas para o inóculo e para as amostras da biomassa oriunda do reator ao final das três condições operacionais. Para o Domínio Arqueia quando a velocidade ascensional foi de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ a microbiota apresentou 66% de similaridade com o inóculo. Essas duas populações apresentaram somente 53% de similaridade com as oriundas das condições experimentais subsequentes, que apresentaram entre si 94% de similaridade. Resultados semelhantes foram

verificados para o Domínio Bacteria. Quando a velocidade ascensional foi de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ a população microbiana apresentou 92% de similaridade em relação ao inóculo, sendo que essas duas populações apresentaram 84% de similaridade com as outras duas condições experimentais, que entre si apresentaram 89% de similaridade. Os resultados de biologia molecular demonstram que a biomassa se modificou adaptando-se ao efluente, apresentando poucas modificações ao longo da última condição experimental.

Figura 5:29. Dendograma resultante das análises de PCR-DGGE: inóculo (1), condições experimentais com velocidade ascensional de $0,2 \text{ m.h}^{-1}$ (2), $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ (3) e $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ (4).

5.1.4.3. Ensaio de Atividade Metanogênica Específica

Os ensaios de Atividade Metanogênica Específica (AME) tiveram como propósito avaliar a capacidade de microorganismos metanogênicos em converter matéria orgânica em metano e gás carbônico. Tal ensaio se constitui em importante ferramenta para o controle operacional de reatores anaeróbios (FORESTI *et al*, 1999). O ensaio de AME foi realizado em dois momentos,

no inóculo, antes da partida do reator, e no lodo desprendido de suportes do ASBBR, após a condição na qual o reator foi operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$. Na Tabela 5.4 estão apresentados os valores de sólidos nas condições citadas.

Tabela 5.4. Concentração de sólidos do lodo do inóculo e do lodo do ASBBR quando operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$

	Lodo do inóculo	Lodo ASBBR $6,4 \text{ m.h}^{-1}$
ST (g.L^{-1})	25 ± 1	35 ± 4
STF (g.L^{-1})	8 ± 1	23 ± 5
STV (g.L^{-1})	17 ± 2	11 ± 4

ST - Sólidos totais, STF - Sólidos Totais Fixos, STV - Sólidos Totais Voláteis.

As produções de metano, para os dois testes estão apresentadas na Figura 5.30. Os ensaios de AME com o lodo de inóculo e do ASBBR, duraram 216 horas. Ambos os ensaios foram realizados a 30°C . A Figura 5.31 ilustra como foram realizados os ensaios de AME.

Figura 5.30. Curva de produção de metano (mL) no ensaio de Atividade Metanogênica Específica do (■) lodo de inóculo, (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$.

Figura 5.31. Ilustração do ensaio de Atividade Metanogênica Específica.

A avaliação da AME, em $\text{mL}_{\text{CH}_4} \cdot \text{gSTV}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ é feita determinando-se a razão entre a variação de produção de metano, em $\text{mL}_{\text{CH}_4} \cdot \text{h}^{-1}$, e a quantidade inicial de biomassa em gSTV, presente no frasco de reação (FLORENTINO *et al.*, 2010). Assim, obteve-se $3,71 \text{ mL}_{\text{CH}_4} \cdot \text{h}^{-1}$ para o lodo do inóculo e $4,99 \text{ mL}_{\text{CH}_4} \cdot \text{h}^{-1}$ para o lodo do ASBBR.

Como o resultado de AME geralmente é expresso como $\text{gDQO}_{\text{CH}_4} \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, faz-se necessário, conhecer também a massa de sólido inoculada (em gramas de STV), bem como converter a produção volumétrica em DQO. Tal conversão pode ser feita estequiometricamente da através da oxidação do metano (Equação 3).

A partir da equação 3 sabe-se que 1 mol de CH_4 equivale a 2 mols de O_2 ou 64g de DQO. Considerando o metano como um gás ideal, pode-se relacionar através da Equação de Clayperon.. Assim, foram obtidos valores de AME de $0,013 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4} / \text{gSVT} \cdot \text{d}$ para o lodo do

inóculo e 0,028g DQO_{CH4}/gSVT.d para o lodo do ASBBR. Almeida *et al* (2011) obtiveram AME de 0,040 DQO_{CH4}/gSVT.d em UASB (*Upflow anaerobic sludge blanket*) tratando águas residuárias de laticínios. Os resultados AME para as referidas amostras demonstraram eficácia em converter acetato em biogás nas condições de incubação, o que comprova que a aplicação do ASBBR é viável para tratar águas residuárias de laticínios.

5.2. Estudo da influência do volume residual na eficiência do sistema

Para a realização desse experimento, o sistema foi operado com ciclo de 24 horas e velocidade ascensional de 6,4 m.h⁻¹.

5.2.1. Operação com alimentação de 1/2 do volume reacional

Durante um período de quatro meses, o ASBBR foi operado com descarga parcial de 50% do volume reacional. No entanto, é importante comentar que devido a problemas técnicos na estação elevatória da estação de tratamento, o sistema ficou parado durante dois meses, porém respondeu de forma satisfatória e obteve estabilidade em um curto período de tempo. A Figura 5.32 apresenta as concentrações expressas em mg.L⁻¹ DQO de afluentes e efluentes, das amostras brutas e filtradas, esta Figura só representa o período em que o reator estava em funcionamento. Em apenas 8 dias de operação, foi alcançada elevada eficiência de remoção de matéria orgânica, aproximadamente 95% para amostras brutas e 92% considerando amostras filtradas. A eficiência média de remoção de matéria orgânica total do sistema foi de 83±13 % e 87±5 % em amostras brutas e filtradas, respectivamente.

Figura 5.32- A. Concentração de matéria orgânica expressa em DQO (mg.L⁻¹) no afluente bruto (▲) e efluente bruto (□); B: Concentração de matéria orgânica expressa em DQO (mg.L⁻¹) no afluente filtrado (○) e afluente filtrado (◆) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h⁻¹ e descarga parcial de 50% do volume residual.

A Tabela 5.5 apresenta os valores médios dos parâmetros de monitoramento dessa condição operacional. Os valores médios de concentração de ácidos voláteis mensurados nas amostras efluentes foram mais baixos comparadas aos medidos no afluente e com pouca variação (figura 5.33). A produção média de alcalinidade foi de 1732 ± 341 mg.L⁻¹ o que

mostra que o sistema comportou-se de maneira satisfatória apresentando geração de alcalinidade e consumo de ácidos.

Figura 5.33. Acidez total ($\text{mg.L}^{-1} \text{CaCO}_3$) das amostras de afluentes (●) e efluentes (□) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 50% do volume residual.

Figura 5.34. Alcalinidade a bicarbonato ($\text{mg.L}^{-1} \text{CaCO}_3$) das amostras de afluentes (◆) e efluentes (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 50% do volume residual.

Verificou-se que houve remoção de sólidos totais, valor médio de $6399 \pm 2443 \text{ mg.L}^{-1}$ para amostras de afluentes, devido a remoção de sólidos totais voláteis, valor médio de $3672 \pm 1219 \text{ mg.L}^{-1}$. Por outro lado, as concentrações de sólidos fixos permaneceram altas, valor médio de $694 \pm 266 \text{ mg.L}^{-1}$, o que pode ser justificado pela salinidade da água residuária introduzida no sistema ser alta.

Verificou-se que os valores de pH (Tabela 5.5) referentes aos afluentes e os efluentes do sistema, estiveram dentro da faixa considerada ótima, o que implicou no bom funcionamento do sistema. O valor médio de nitrogênio total (tabela 5.5) nas amostras dos afluentes foi de $126 \pm 45 \text{ mg N-NKT. L}^{-1}$ e nas amostras de efluentes foi de $84 \pm 19 \text{ mg N-NKT. L}^{-1}$, assim pode-se perceber que ocorreu pouco consumo de nitrogênio total, o que pode ser justificado pela conversão do nitrogênio orgânico à amoniacal. As concentrações de nitrogênio amoniacal não foram suficientes para prejuízo do desempenho do sistema.

Tabela 5.5. Valores médios das variáveis monitoradas na operação com alimentação de 1/2 do volume reacional

Parâmetro		Afluente	Efluente
DQO (mg.L^{-1})	Bruta	5618 ± 2639	1385 ± 1674
	Filtrada	4099 ± 2194	608 ± 486
pH		$6,77 \pm 0,33$	$7,33 \pm 0,14$
AB (mg.L^{-1})		684 ± 281	1732 ± 341
AT (mg.L^{-1})		1728 ± 371	2284 ± 548
Acidez (mg.L^{-1})		1387 ± 448	154 ± 63
N-NTK (mg.L^{-1})		126 ± 45	84 ± 19
N-NH ₄ ⁺ (mg.L^{-1})		33 ± 18	47 ± 12
ST (mg.L^{-1})		6399 ± 2443	4061 ± 1233
STV (mg.L^{-1})		3672 ± 1219	3367 ± 986
STF (mg.L^{-1})		2727 ± 1251	694 ± 266

AB - Alcalinidade a Bicarbonato, AT - Alcalinidade Total, N-NTK -Nitrogênio Total Kjeldahl, N-NH₄⁺ - Nitrogênio Amoniacal, ST - Sólidos totais, STF - Sólidos Totais Fixos, STV - Sólidos Totais Voláteis.

Atingida a estabilidade do sistema foi realizado perfil de amostragens temporais ao longo do tempo de ciclo. Na Figura 5.35, encontram-se os valores de DQO ao longo do tempo de ciclo de 24 horas.. Pode-se observar que a concentração de matéria orgânica expressa em DQO diminui, apresentando mesmo comportamento verificado por Fuzatto *et al.* (2009) operando sistema em escala de bancada, agitado mecanicamente. O ajuste cinético realizado demonstra que com fator de correlação de 0,85, o modelo que melhor descreveu o processo foi o de primeira ordem com residual, como verificou Fuzzato *et al.* (2009), com carga aplicada semelhante. A constante cinética aparente de primeira ordem obtida nessa etapa de estudo foi de $0,19 \text{ h}^{-1}$. O modelo não apresentou descontinuidade como foi verificado por Penteado *et al.* (2010), muito provavelmente em função das elevadas taxas de diluição proporcionadas pela forma de alimentação utilizada.

Figura 5.35. : Amostragem temporal de matéria orgânica expressa em DQO total (■) e em amostras filtradas (●) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 50% do volume residual, em um período de 24 horas.

Na Figura 5.36 é possível verificar que o pH se manteve próximo a neutralidade ao longo do ciclo, indicando estabilidade do sistema.

Figura 5.36. Amostragem temporal de pH em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 50% do volume residual., em um período de 24 horas.

O perfil temporal de acidez é apresentado na Figura 5.37, que evidencia a ocorrência de acúmulo de ácidos até 5 horas, seguida de posterior consumo da acidez do sistema.

Figura 5.37. Amostragem temporal de acidez total (mg.L^{-1}) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 50% do volume residual., em um período de 24 horas.

Ao analisar a alcalinidade a bicarbonato durante o período de 24 horas (Figura 5.38), verifica-se que esta tende a aumentar ligeiramente ao longo do tempo, indicando mais uma vez estabilidade do processo.

Figura 5.38. Amostragem temporal de alcalinidade a bicarbonato ($\text{mg.L}^{-1} \text{CaCO}_3$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 50% do volume residual, em um período de 24 horas.

Na Figura 5.39 são apresentados os dados de ácidos voláteis, obtidos por cromatografia gasosa. É possível observar que os ácidos são consumidos, no entanto a concentração inicial já foi baixa.

Figura 5.39: Amostragem temporal de ácidos voláteis – ácido acético (◆), ácido propiônico (■), ácido butírico (×), ácido isobutírico (▲), ácido isovalérico (✱), ácido valérico (●), ácido capróico (+) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 50% do volume residual., em um período de 24 horas.

5.2.2. Operação com alimentação de 2/3 do volume reacional

O sistema foi operado com ciclo de 24 horas, velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e com descarga parcial de 67% do volume reacional durante um período de quatro meses.

As eficiências mensuradas após o período de monitoramento do sistema podem ser visualizadas na Figura 5.40. Após três dias de operação, foi alcançada elevada eficiência de remoção de matéria orgânica de 94,4 % para amostras brutas e 94,3 % considerando amostras filtradas. A eficiência média de remoção de matéria orgânica total do sistema foi de $84 \pm 9 \%$ e $85 \pm 9 \%$ em amostras brutas e filtradas, respectivamente.

Na Figura 5.40, são apresentados os valores de DQO mensurados de afluente e efluente do sistema ao longo dos ciclos de 24 horas. Mesmo com grande variedade nos valores de concentração de matéria orgânica nas amostras de afluentes (valor máximo de 7231 mg.L^{-1}), houve uniformidade nos valores das amostras de efluentes, Desta forma, verifica-se que o sistema se manteve estável em todo o período analisado.

Figura 5.40. A: Concentração de Matéria Orgânica expressa em DQO (mg.L⁻¹) no afluentes bruto (▲) e efluente bruto (□); B: Concentração de Matéria Orgânica expressa em DQO (mg.L⁻¹) no afluentes filtrado (○) e efluente filtrado (◆) em ASBBR operado com velocidade ascensional de 6,4 m.h⁻¹ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.

Na Tabela 5.6 são apresentados os valores das variáveis monitoradas nesta condição operacional. Foi possível perceber que, a alcalinidade no sistema proporcionou condições ótimas de pH, o que possibilitou bom desempenho ao sistema (Figura 5.42). Mais uma vez se verificou elevada produção de alcalinidade (em média 1050 mg.L⁻¹), o que indica que a presença de alcalinidade remanescente do ciclo anterior pode ter tido importante papel na

manutenção da estabilidade do sistema. Estudos posteriores com diminuição de alcalinidade afluente se fazem necessários, pois pode ser possível minimização de custos operacionais.

Tabela 5.6. Valores médios das variáveis monitoradas na operação com alimentação de 2/3 do volume reacional

Parâmetro		Afluente	Efluente
Concentração DQO (mg.L ⁻¹)	Bruta	4289± 1324	713 ± 490
	Filtrada	2700 ± 856	428 ± 306
pH		7,09 ± 0,49	7,44 ± 0,26
AB(mg.L ⁻¹)		618± 219	1668 ± 356
AT(mg.L ⁻¹)		1521 ± 437	2124 ± 409
Acidez(mg.L ⁻¹)		834 ± 249	172 ± 109
N-NTK(mg.L ⁻¹)		86 ± 48	78 ± 9
N-NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)		36 ± 17	48 ± 22
ST(mg.L ⁻¹)		5271 ± 2664	3195 ± 716
STF(mg.L ⁻¹)		2894 ± 912	2516 ± 585
STV(mg.L ⁻¹)		2377 ± 1889	679 ± 146

AB - Alcalinidade a Bicarbonato, AT - Alcalinidade Total, N-NTK -Nitrogênio Total Kjeldahl, N-NH₄⁺ -Nitrogênio Amoniacal, ST - Sólidos totais, STF - Sólidos Totais Fixos, STV - Sólidos Totais Voláteis.

Figura 5.41. Alcalinidade a bicarbonato ($\text{mg.L}^{-1} \text{CaCO}_3$) das amostras de afluentes (◆) e efluentes (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.

As concentrações de ácidos voláteis nas amostras de efluentes do reator apresentaram valores mais baixos comparados ao afluente e com pouca variação. Como consequência do consumo de ácidos, pôde-se verificar na Figura 5.42, que houve grande produção de alcalinidade a bicarbonato nas saídas em relação às amostras de afluentes do sistema.

Figura 5.42. .Acidez total ($\text{mg.L}^{-1} \text{CaCO}_3$) das amostras de afluentes (●) e efluentes (□) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.

Ocorreu pouco consumo de nitrogênio total, em função da conversão do nitrogênio orgânico à amoniacal. As concentrações de nitrogênio amoniacal não foram suficientes para prejuízo do desempenho do sistema. Ainda na Tabela 5.6 são apresentados os valores de Sólidos Totais correspondentes as amostras de afluentes e efluentes do sistema. O valor médio obtido no afluente e afluente do sistema foi de $5271 \pm 2664 \text{ mg.L}^{-1}$ e $3196 \pm 716 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente. Para os valores de Sólidos Totais Voláteis referentes ao afluente e efluente, os quais apresentaram valores médios de 2377 ± 1889 e 679 ± 146 , respectivamente, e Sólidos Totais Fixos referentes às entradas e saídas, os quais apresentaram valores médios de 2894 ± 912 e 2516 ± 585 , respectivamente. Pôde-se novamente verificar que houve consumo de sólidos totais devido ao consumo de sólidos totais voláteis e que as concentrações de sólidos fixos permaneceram altas, em função da salinidade da água residuária introduzida no sistema.

Após a estabilização do sistema foi realizado um perfil temporal. Na Figura 5.43 estão representados os valores de DQO bruta (mg.L^{-1}) e DQO filtrada (mg.L^{-1}), respectivamente, ao

longo do ciclo de 24 horas. Pôde-se verificar que o sistema necessitou de aproximadamente 12 horas para que se iniciasse a remoção efetiva de matéria orgânica.

Figura 5.43: Amostragem temporal de matéria orgânica expressa em DQO total (■) e em amostras filtradas (○) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 67% do volume residual,, em um período de 24 horas

Os valores de pH (Figura 5.44) ao longo do mesmo período de 24 horas se mantiveram dentro da faixa considerada ótima por Foresti (1994).

Figura 5.44 Amostragem temporal de pH em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.

Na Figura 5.45 encontram-se os valores de acidez mensurados ao longo do tempo de ciclo. Percebe-se consumo de ácidos voláteis todavia sem acúmulo, e em contrapartida, sutil produção alcalinidade a bicarbonato representada na figura 5.46.

Figura 5.45. Amostragem temporal de acidez total (mg.L^{-1}) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.

Figura 5.46. Amostragem temporal de alcalinidade a bicarbonato ($\text{mg.L}^{-1} \text{CaCO}_3$) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.

Na Figura 5.47 são apresentadas as concentrações de ácidos voláteis, obtidas por cromatografia gasosa. Pôde-se perceber predominância dos ácidos acético e propiônico, cujas concentrações diminuíram ao longo do tempo. Tal tendência confirma a obtida em relação aos valores de concentração de matéria orgânica.

Figura 5.47. Amostragem temporal de ácidos voláteis – ácido acético (◆), ácido propiônico (■), ácido butírico (×), ácido isobutírico (▲), ácido isovalérico (*), ácido valérico (●), ácido caprótico (+) em ASBBR operado com velocidade ascensional de $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ e descarga parcial de 67% do volume residual, em um período de 24 horas.

5.3. Comparação entre condições experimentais

Na Tabela 5.6 são apresentados os principais resultados das cinco condições experimentais. Ao analisarem-se a segunda e a terceira condição pôde-se verificar que o aumento da velocidade não proporcionou o aumento da eficiência média de remoção de matéria orgânica. Porém, o aumento da velocidade de $3,8 \text{ m.h}^{-1}$ para $6,4 \text{ m.h}^{-1}$ proporcionou a diminuição da acidez das amostras das saídas.

Ao comparar a terceira condição com a quarta condição, pôde-se verificar que houve aumento significativo na eficiência média de remoção de matéria orgânica bruta e filtrada ao analisar o período de 24 horas. Além disto, a quarta condição proporcionou maior diminuição da acidez nas amostras das saídas. Desta forma, a diminuição do tempo de ciclo com manutenção na carga orgânica aplicada não prejudica o sistema.

Em relação a quarta e a quinta condição, verificou-se que não houve diferença entre os resultados obtidos. Diante disto, é possível concluir que a quinta condição estudada é a mais indicada para o sistema, pois além de apresentar alto valor de eficiência de remoção de matéria orgânica, apresenta tempo de ciclo de 24 horas, com 67% do volume trocado, o que representa maior volume de efluente tratado por tempo de reação.

Tabela 5.7. Resultados das cinco condições experimentais

			0,2m.h ⁻¹	3,8m.h ⁻¹	6,4 m.h ⁻¹	6,4.h ⁻¹ , 50% volume trocado	6,4.h ⁻¹ , 67% volume trocado
DQO (mg.L ⁻¹)	Afluente	Bruto	3726±1816	5104±1750	5702±2409	5618±2639	4289±1323
		Filtrado	2786±1614	3765±1139	4406±1839	4099±2194	2700 ± 855
	Efluente	Bruto	639 ±528	814±547	787 ± 501	1386±1674	713 ± 490
	Efluente	Filtrado	504±404	522±435	557 ± 411	608 ± 486	428 ± 306
Acidez (mg.L ⁻¹)	Afluente		736 ± 361	1106 ± 442	1218 ± 306	1387± 448	834 ± 250
	Efluente		191 ± 146	223 ± 209	234 ± 125	180± 94	172 ± 109
AB(mg.L ⁻¹ de CaCO ₃)	Afluente		787 ± 759	611 ± 289	828 ± 268	684±281	618± 218
	Efluente		1672±1065	1658 ± 466	1990± 490	1732 ± 341	1521±436
Eficiência (%)	24 horas	bruta	nm(*)	71 ± 13	68 ± 18	83 ± 13	85±9
		filtrada	nm(*)	70 ± 15	72 ± 15	87 ± 5	85 ± 9
	48 horas-	bruta	82 ± 11 %	84 ± 11%	85 ± 9 %	nm(*)	nm(*)
		filtrada	82± 9 %	83 ± 13 %	87 ± 9 %	nm(*)	nm(*)

AB – Alcalinidade a bicarbonato, (*) nm - Não mensurada

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que o ASBBR foi eficiente, robusto e confiável para o tratamento de efluentes de laticínios com as cargas aplicadas e tempos de ciclo praticados.

O aumento de velocidade não foi suficiente para verificação de aumento significativo na eficiência do sistema, todavia contribuiu para o aumento da homogeneidade nos valores de concentração efluente de DQO e ácidos voláteis, favorecendo o consumo de tais metabólitos intermediários

A biomassa adaptou-se bem ao sistema e ensaios de AME evidenciaram manutenção da capacidade metanogênica ao longo do tempo de operação. Os resultados de biologia molecular demonstram que a biomassa se modificou adaptando-se ao efluente, apresentando pouca variação entre as duas últimas condições operacionais.

Verificou-se que diminuição do tempo de ciclo não foi prejudicial ao sistema quando a carga orgânica foi mantida, no entanto não apresentando diferenças significativas entre as diferentes condições operacionais.

O tratamento de 67% do volume reacional foi possível eficientemente com tempo de ciclo de 24. Assim, dentre as condições testadas, a mais indicada foi a quinta pois, permite a adequação do sistema de tratamento à produção diária dos pequenos laticínios, e apresentou maior volume tratado por unidade de tempo.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com base nos resultados obtidos durante esse experimento são apresentadas sugestões para trabalhos futuros com essa configuração de reator, visando complementar trabalhos futuros.

- Avaliar a retenção de gorduras na espuma de poliuretano, tratando efluente de laticínio;
- Estudar meio suporte alternativo que possa ser utilizado como adsorvente competitivo de lipídios no processo de degradação anaeróbia de efluentes;
- Aprofundar o estudo de biologia molecular da biomassa para verificar e comprovar a ausência de microrganismos fluorescentes;
- Estudar meio de captura de biogás para possível utilização para outros fins.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, MT.; NUNES, W.A; BLANK, D.E.; SCHAUN, C.D.; HERNANDEZ, A.C. Comparação entre atividade metanogênica específica de lodos anaeróbios tratando efluentes de conservas vegetais, laticínios e parboilização do arroz. **XX Congresso de Iniciação Científica**. Pelotas RS, 2011.
- ALVES, M. M.; PEREIRA, M. A.; SOUSA, D. Z.; CAVALEIRO, A. J.; PICAVET, M. SMIDT, H.; STAMS, A. J. M. Waste lipids to energy: how to optimize methane production from long-chain fatty acids (LCFA). Minireview. **Microbial Biotechnology**. n.2, n. 1, p. 538-550, 2009.
- ALVES, M.M.; MOTA VIEIRA, J.A.; ALVARES PEREIRA, R.M.; PEREIRA, M.A.; MOTA, M. Effects on lipids and oleic acid on biomass development in anaerobic fixed-bed reactors. Part II: Oleic acid toxicity and biodegradability. **Water Research**. v.35, p.264, 2000.
- APHA/AWWA/WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20th ed. American Public Health Association, Washington, DC, 1998.
- AQUINO, S.F.; CERNICHARO, C.A.L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Engenharia Sanitária Ambiental**. v.2, n.10, p.152-161, 2005.
- AQUINO, S.F.; CERNICHARO, C.A.L.; FORESTI, E.; SANTOS, M. L.F; MONTEGGIA, L.O. Metodologias para determinação da atividade metanogênica Específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária Ambiental**. v.2, n.12, p.192-201. 2007.
- ARBELI, Z.; BRENNER A.; ABELIOVICH, A. Treatment of high-strength dairy wastewater in an anaerobic deep reservoir: Analysis of themethanogenic fermentation pathway and the rate-limiting step. **Water Research**, v.40, p.3653–3659, 2006.
- BELANÇON, D., FUZATTO, M. C.; GOMES, D. R. S.; CICHELO, G. C. V.; PINHO, S. C.; RIBEIRO, R.; TOMMASO, G. A comparison of two bench-scale anaerobic systems used for the treatment of dairy effluents. **International Journal of Dairy Technology**. v.63, p.1–8, 2010.
- BEZERRA, R.A., JR., RODRIGUES, J.A.D., RATUSZNEY, S.M., ZAIAT, M., FORESTI, E. Whey treatment by AnSBBR with circulation: Effects of organic loading, shock loads, and alkalinity supplementation. **Applied Biochemistry Biotechnology**. v.143, p.257-275, 2007.
- BOUGH, W. A.; R. J. SWIENTEK, R.J. Dairy installs pre treatment system vs. paying 75% of \$1.5 million city treatment plant-saves \$450,000. **Food Processor**. p.150-151, 1981.
- BRASIL. **Resolução COMANA** nº. 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluente, e dá outras providências. Brasília-DF: Conselho Nacional de Meio Ambiente.
- CAMPOS, J. R. Biomassa fixa: reatores anaeróbios. In: **III Taller y seminario latinoamericano**. Tratamiento anaerobio de aguas residuales. Montevideo, Uruguay, p.169-184, 1994.
- CERNICHARO, C. A. L.; COTA, R. S.; ZERBINI, A.M. SPERLING, M. V.; BRITO, L. H. N. C. . Post-treatment of anaerobic effluents in an overland flow system. **Water Science and Technology**, Inglaterra, v.44, n.4, p.229-236, 2001.
- CERNICHARO, C.A.L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: reatores anaeróbios**. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, v.5, 246 p.1997.

CUBAS, S.A.; RATUSZNEI, S.M.; RODRÍGUES, J.A.D.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Influence of the liquid-phase mass transfer on the performance of a stirred anaerobic sequencing batch reactor containing immobilized biomass. **Biochemical Engineering Journal**, v. 17, p.99-105, 2004.

DAGUE, R.R.; HABBEN, C.E.; PIDAPARTI, S. R. Initial studies on the anaerobic sequencing batch reactor. **Water Science and Technology**, v.9, n.26, p. 2429-2932, 1992.

DEMIREL, B.; YENIGUN, O.; ONAY, T.T. Anaerobic treatment of dairy wastewaters: a review. **Process Biochemistry**. v.40, p.2583–2595, 2005.

DILLALO, R.; ALBERTSON, O. E. Volatile acids by direct titration. **Journal WPCF**, v.33, p.356-365, 1961.

FLORENTINO, H.O.; BISCARO, A.F.V.; PASSOS, J.R.S. Funções sigmoidais aplicadas na determinação da atividade metanogênica específica. **Revista Brasileira de Biometria**, São Paulo, v.28, n.1, p.141-150, 2010.

FORESTI, E. Fundamentos do processo de digestão anaeróbia. Tratamiento anaeróbico de aguas residuales. In: **III Taller y Seminario Latinoamericano**. Montevideo, Uruguay, p. 97-110, 1994.

FUZATTO, M.C., ADORNO, M.A.T., PINHO, S.C., RIBEIRO, R., TOMMASO, G. Simplified mathematical model for an anaerobic sequencing batch biofilm reactor (ASBBR) treating lipid-rich wastewater subject to rising organic loading rates. **Environmental Engineering Science**, v.26, n.7, p.1197–1205, 2009.

GAVALA, H.N.; KOPSINIS, H.; SKIADAS, I.V.; STAMATELATOU, K.E LYBERATOS, G. Treatment of dairy wastewater using an upflow anaerobic sludge blanket reactor. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 73, p. 59-63, 1999.

GOMES, D.R.S.; PAPA, L.G.; CICHELO, G.C.V.; BELANCON, D.; POZZI, E.G.; BALIEIRO, J.C.C.; MONTERREY-QUINTERO, E.S.; TOMMASO, G. Effect of enzymatic pretreatment and increasing the organic loading rate of lipid-rich wastewater treated in a hybrid UASB reactor. **Desalination**, v.279, p.96-103, 2011.

GRIFFITHS, R.I.; WHITELEY, A.S.; O'DONNELL, A.G.; BAILEY, M.J. Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA and rRNA-based microbial community composition. **Applied Environmental Microbiology**, v.66, p.5488–5491, 2000.

GROBICKI, A.; STUCKEY, D.C. Performance of the anaerobic baffled reactor under steady-state and shock loading conditions, **Biotechnology and Bioengineering**, v.33, p.344-355, 1991.

HEUER H., KRSEK M., BAKER P., SMALLA K., WELLINGTON E.M.H. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel electrophoretic separation in denaturing gradients. **Applied Environmental Microbiology**. v.63, p.3233-3241, 1997.

HWU, C. S.; LETTINGA, G. Acute toxicity of oleate to acetate-utilizing methanogens in mesophilic and thermophilic anaerobic sludges. **Enzyme Microbial Technology**. v.21, p.297, 1997.

KUDO, Y.; NAKAJIMA, T.; MIYAKI, T.; OYAIZU, H. Methanogen flora of paddy soils in Japan. **FEMS. Microbiology Ecology**. v.22, p.39-48, 1997.

LAPA, K.R. **Avaliação da influência do regime de alimentação e agitação no tratamento de esgoto sanitário utilizando o reator anaeróbico em batelada sequencial (ASBR) com biomassa imobilizada**. 190p. Tese de Doutorado. EESC, USP, 2006.

LEAL, M.C.M.R.; CAMMAROTA, M.C.; FREIRE, D.M.G.; SANT'ANNA JR, G.L. Hydrolitic enzymes as coadjuvants in the anaerobic treatment of dairy wastewaters. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, n.19, v.02, p.175-180, 2002.

LETTINGA, G.; HULSHOF POLL, W.; ZEEMAN, G. Biological Wasterwater Treatment. Part I: Anaerobic wasterwater treatment. **Lecture Notes**. Wageningen Agricultutal University, 1996.

MATSUMOTO, E.M.; OSAKO, M.S.; PINHO, S.C.; TOMMASO, G.; GOMES, T.M.; RIBEIRO, R. Treatment of wastewater from dairy plants using Anaerobic Sequencing Batch Reactor (ASBR) following by Aerobic Sequencing Batch Reactor (SBR) aiming the removal of organic matter and nitrification. **Water Practice & Tecnology**. v.7, n. 3. Doi 10.2166, 2006.

MADIGAN, M.T., MARTINKO J.M. & PARKER J. **Brock Biology of Microorganisms**, eight edition. Prentice Hall, Inc. New Jersey, 1997.

MENDES, A. A.; CASTRO; H.F; PEREIRA, F.B.; FURIGO JR., A. Aplicação de lipases no tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos. **Química Nova**. v.2, n.28, p.296-30, 2005.

MISTRY, V.V.; METZGER, L.E.; MAUBOIS, J.L. Use of ultrafiltered sweet buttermilk the manufacture of reduced fat Cheddar chesse. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.1137-1145, 1996.

MOCKAITIS, G., RATUSZNEI, S.M., RODRIGUES, J.A.D., ZAIAT, M., FORESTI, E. Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic loading and supplemented alkalinity. **Journal of Environmental Management**. v.2, n.79, p.198-206, 2006.

MORAES, E.M., ADORNO, M.A.T., ZAIAT, M., AND FORESTI, E. Determination of volatile fatty acids by gas chromatography in effluents from anaerobic reactors treating solid and liquid wastes. **In: Proceedings of Workshop and Symposium on Anaerobic Processes**. Recife, 2 p. 231 -234, 2000.

MOSEY, F. E. Mathematical modelling of the anaerobic digestion: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. **Water Science and Technology**. v.15, p.209-232, 1983.

MUYZER, G.; WAAL, E.C.; UITTERLINDEN, G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S RNAr. **Applied Environmental Microbiology**. v.59, p.695-700, 1993.

NADAIS, H. et al. Optimum cycle time for intermediated UASB reactors treating dairy wastewater. **Water Research**, v.8, n.39, p.1511-1518, 2005.

NAJAFPOUR, G.D. et al. High-rate anaerobic digestion of palm oil mill effluent in an upflow anaerobic sludge-fixed film bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 41 p. 370-379, 2006.

PAOLUCCI, A.A.P. **Formulação de um meio de cultura a base de soro de queijo para a produção de *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis***. 66f. Dissertação de Mestrado. UFV, Viçosa, 1991.

PENTEADO, T. Z.; SANTANA, R. S. S. ; DIBIAZI, A. L. B; PINHO, S. C.; RIBEIRO, R.. TOMMASO, G. Effect of agitation on the performance of an anaerobic sequencing batch reactor in the treatment of dairy effluents. **Water Science and Technology**, v.63, p.995-1003, 2011.

PENTEADO, T.Z.; SANTANA, R.S.S.; DIBIAZI, A.L.B.; PINHO, S.C.; RIBEIRO, R.; TOMMASO, G. Influência da agitação no desempenho de um ASBBR tratando efluentes de laticínios. In: **XVII Simpósio Nacional de Bioprocessos**, 2009.

- PERLE, M.; KIMCHIE, S.; SHELEF, G. Some biochemical aspects of the anaerobic degradation of dairy wastewater. **Water Research**. v.6, n.9, p.1549-1554, 1995.
- PETRUY, R.; LETTINGA, G. Digestion of a milk - fat emulsion. **Bioresource Technology**, v.61, p.141-149, 1997.
- PINHO, S.C.; RATUSZNEI, S.M.; RODRIGUES, J.A.D.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Feasibility of treating partially soluble wastewater in anaerobic sequencing batch biofilm reactor (ASBBR) with mechanical stirring. **Bioresource Technology**, v.96, p.517-519, 2005.
- RAJESHWARI, K.V.; BALAKRISHNAN, M.; KANSAL, A.; LATA, K.; KISHORE, V.N.V. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v.4, p.135-156, 2000.
- RATUSZNEI, S.M.; RODRIGUES, J.A.D.; CAMARGO, E.F.M.; RIBEIRO, R.; ZAIAT, M. Effect of feeding strategy on a stirred anaerobic sequencing fed-batch reactor containing immobilized biomass. **Bioresource Technology**, v.90, p.199-205, 2003.
- RIPLEY, L.E.; BOYLE, W.C.; CONVERSE, J.C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal WPCF**, v.58, p.406-411, 1986.
- SARAIWA, C.B. **Potencial poluidor de laticínio de pequeno porte: um estudo de caso**. Dissertação de Mestrado. 80p. UFV, Viçosa, Brasil, 2008.
- SPEECE, R.E. **Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters**. Vanderbilt University Nashville, Tennessee: Arquea Press, 394 p, 1996.
- STAMS A.J.M. Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.66, p.271-279, 1994.
- STEIL, L. **Caracterização e uso de inóculo em biodigestores operados com dejetos de frangos, suínos e aves de postura**. 90 f. Dissertação de Mestrado - UNESP, Jaboticabal, Brasil, 2001.
- VIDAL, G.; CARVALHO, A.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J.M. Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters. **Bioresource Technology**. v.74, p.231-239, 2000.
- VOURCH, M.; BALANNEC, B.; CHAUFER, B.; DORANGE, G. Treatment of dairy industry wastewater by reverse osmosis for water reuse. **Desalination** v.219: p.190-202, 2008.
- WILDERER P.A.; MCSWAIN B.S. The SBR and its biofilm application potentials. **Water Science and Technology**, n.10, v.50, p.1-10, 2004.
- ZACARCHENCO, P.B.; VAN, D.A.G.; SPADOTI, L.M.; MORENO, I. Soro de leite de problema ambiental a solução para tratamento de doenças. **Revista Leite e derivados**, v.106, p.138, 2008.
- ZAIAT, M.; RODRIGUES, J.A.D.; RATUZSNEI, S.M.; CAMARGO, E.F.M.; BORZANI, W. Anaerobic sequencing batch reactors for wastewater treatment: a developing technology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.55, p.29-35, 2001.
- ZEHNDER, A.J.; HUSER, B.A.; BROCK, T.D.; WUHRMANN, K. Characterization of an acetate-decarboxylating, non-hydrogen-oxidizing methane bacterium. **Archives of Microbiology**. n.1, v.124, p.1-11, 1980.