UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

DIEGO FERNANDO ATOCHE GARAY

Tratamento anaeróbio de efluentes em reatores de alta taxa

Lorena
2019

DIEGO FERNANDO ATOCHE GARAY

Tratamento anaeróbio de efluentes em reatores de alta taxa

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na área de concentração de Conversão de Biomassa.

Orientador: Flávio Teixeira da Silva

Versão Corrigida

Lorena

2019

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Atoche Garay, Diego Fernando
Tratamento anaeróbio de efluentes em reatores de alta taxa. / Diego Fernando Atoche Garay; orientador Flávio Teixeira da Silva - Versão Corrigida. - Lorena, 2019.
156 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2019

1. Efluente de estrume bovino. 2. Imobilização de lodo anaeróbio. 3. Ralf. 4. Egsb. 5. Toxicidade aguda. I. Título. II. Silva, Flávio Teixeira da, orient.

A mi hermano Daniel, haz que valga
la pena cada día que estás lejos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, meus pilares, Felipe e Beatriz, que sempre apoiaram as minhas decisões e confiaram em mim, agradeço tudo. Aos meus irmãos, meus ídolos, Daniel e Erika, que são a força para continuar.

Ao prof. Flávio e à profa. Teresa, agradeço a oportunidade e a confiança para desenvolver o mestrado.

Ao meu parceiro de laboratório, Felipe, que sempre esteve disposto para ajudar.

Aos técnicos da ETE, Brandão e Manoel, que sempre torceram para que os experimentos tenham resultados positivos.

Ao time do laboratório e grupo de pesquisa pelo apoio nas atividades de laboratório e por harmonizar o ambiente de trabalho.

Aos meus amigos que fizeram de Lorena um lar e com os quais tenho lembranças memoráveis.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial e à Universidade de São Paulo.

À CAPES pelo apoio financeiro.

RESUMO

ATOCHE GARAY, D. F. **Tratamento anaeróbio de efluentes em reatores de alta taxa**. 2019. 156 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2019.

A bovinocultura é uma das principais atividades econômicas no Brasil. O rebanho bovino nacional tem tido um grande crescimento nas últimas décadas, que fomenta a economia, mas que também provoca a geração de maior quantidade de resíduos ou dejetos, os quais representam um constante risco de poluição com alto potencial negativo para o meio ambiente. O tratamento anaeróbio de efluentes provenientes de estrume bovino, em reatores de alta taxa, é uma alternativa eficiente para minimizar o seu impacto ambiental e produzir energia. A eficiência desses reatores reside, dentre alguns fatores, na sua capacidade de retenção de biomassa, que pode ser promovida através da imobilização de biomassa em suportes ou grânulos. Os reatores anaeróbios de leito fluidizado (RALF) e os de leito granular expandido (EGSB) são reatores de alta taxa que propiciam alta retenção de biomassa e têm apresentado desempenhos satisfatórios no tratamento de diversos efluentes. Dessa forma, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar e comparar o desempenho de dois RALFs e de um reator EGSB no tratamento anaeróbio da fração líquida, obtida por diluição e peneiramento de estrume bovino. Primeiramente, foi testada a capacidade de adesão de biomassa de 6 suportes diferentes (espuma de poliuretano, argila expandida, areia de quartzo, cerâmica *ista quartzite glass*, basalto, pedra-pomes) e determinada a atividade metanogênica específica (AME) dos microrganismos aderidos em cada suporte. A espuma, a argila e a pedra-pomes apresentaram maior adesão de microrganismos que os outros suportes, devido a sua maior área superficial e a sua rugosidade. A biomassa aderida à argila apresentou a maior AME. Não foram observadas diferenças significativas na AME da biomassa aderida aos outros suportes. Argila e pedra-pomes foram escolhidas para o tratamento de efluente nos RALFs. No período de adaptação, os reatores foram alimentados com efluente sintético, para promover o desenvolvimento do consórcio microbiano. No final desse período, os reatores apresentaram alta estabilidade e foram eficientes para a remoção de DQO (Demanda química de oxigênio) (90%). O tratamento do efluente foi dividido em 5 fases, com tempos de detenção hidráulica (TDH) entre 16 e 4 h, e carga orgânica volumétrica (COV) entre 7,5 e 30 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$. Os reatores mostraram estabilidade até a 4º fase, porém, posteriormente com TDH de 4 h e COV de 30 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$, foi observado acúmulo de ácidos, o qual foi mais acentuado no reator EGSB. Os melhores desempenhos dos reatores ocorreram nas duas primeiras fases com TDHs de 16 e 12 h, e COVs de 7,5 e 10 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$, com remoções de DQO e SV (sólidos voláteis) de 81 ± 3% e 67 ± 10%, respectivamente. A produção específica de metano foi maior no RALF/AE (RALF com argila expandida), o qual também foi o reator que operou de forma mais estável, em termos do aumento da COV e da diminuição de TDH. O reator EGSB, com maior volume útil do que os outros reatores, removeu maior quantidade de poluentes até a 4º fase, seguida de maior remoção de toxicidade até a 3º fase. Todos os reatores foram considerados satisfatórios para a remoção de matéria orgânica dos efluentes e produção de metano.

Palavras-chave: Efluente de estrume bovino. Imobilização de lodo anaeróbio. RALF. EGSB. Toxicidade aguda.

ABSTRACT

ATOCHE GARAY, D. F. **Anaerobic wastewater treatment in high-rate reactors.** 2019. 156 p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2019.

Cattle farming is one of the main economic activities in Brazil. The national cattle population has had a great growth in recent decades, which encourages the economy, but also causes the generation of more waste or manure, which represent a constant risk of pollution with high negative potential for the environment. Anaerobic treatment of wastewaters from cattle manure, in high-rate reactors, is an efficient alternative to minimize its environmental impact and to produce energy. The efficiency of these reactors lies, among some factors, in their biomass retention capacity, which can be promoted by immobilizing biomass in supports or in granules. Anaerobic fluidized bed reactors (AnFBR) and expanded granular sludge bed reactors (EGSB) are high rate reactors that provide high biomass retention and have shown satisfactory performances in the treatment of various kinds of wastewaters. Thus, the main objective of this work was to evaluate and compare the performance of two AnFBRs and one EGSB reactor in the anaerobic treatment of the liquid fraction obtained by cattle manure dilution and screening. Firstly, the biomass adhesion capacity of 6 different supports (polyurethane foam, expanded clay, quartz sand, ista quartzite glass ceramic, basalt and pumice) was tested and the specific methanogenic activity (SMA) of the microorganisms adhered to each one was determined. Foam, clay and pumice showed higher microbial adhesion than other supports due to their larger surface area and roughness. The biomass adhered to the clay presented the largest SMA. No significant differences were observed in the SMA of the biomass adhered to the other supports. Clay and pumice were chosen for their use in reactors. During the adaptation period, the reactors were fed with synthetic effluent in order to promote the development of the microbial consortium. At the end of this period, the reactors showed high stability and were efficient for COD (Chemical oxygen demand) removal (90%). The wastewater treatment was divided into 5 phases, with hydraulic retention times (HRT) between 16 and 4 h, and organic loading rates (OLR) between 7.5 and 30 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$. The reactors showed stability until the 4th phase, but later with HRT of 4 h and OLR of 30 $kgCOD.m^{-3}.d^{-1}$, acid accumulation was observed, which was more pronounced in the EGSB reactor. The best reactor performances occurred in the first two phases with HRT of 16 and 12 h, and OLR of 7.5 and 10 kg $COD.m^{-3}.d^{-1}$, with COD and VS (volatile solids) removals of 81 ± 3% and 67 ± 10%, respectively. Specific methane production was higher in AnFBR/EC (AnFBR with expanded clay), which was also the most stable reactor against the increase of OLR and decreased of HRT. The EGSB reactor, with a higher useful volume than the other reactors, removed more pollutants until the 4th phase, followed by greater toxicity removal until the 3rd phase. All three reactors were considered satisfactory for the removal of organic matter from effluents and methane production.

Keywords: Wastewater from bovine manure. Anaerobic sludge immobilization. AnFBR. EGSB. Acute toxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Distribuição do rebanho bovino no Brasil nos anos 1980 e 2017.....24
Figura 2 – Representação dos principais nutrientes de um 1kg de uma forrageira tropical na alimentação de ruminantes.....26
Figura 3 - Esquema geral das fases de hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese dentro do processo de digestão anaeróbia.....31
Figura 4 - Crescimento relativo de microrganismos metanogênicos psicrófilos, mesófilos e termófilos em função da temperatura. 37
Figura 5 - Representação esquemática do sistema de armazenamento do lodo com *airlock* 58
Figura 6 - Imagens da propriedade rural onde foi coletado o esterco. A: Curral de ordenha das vacas leiteiras visto por fora. B e C: Curral de ordenha visto por dentro.....60
Figura 7 - Esquema geral dos reatores construídos no laboratório com seus diversos componentes 62
Figura 8 - Imagens de um reator construído no laboratório e de alguns componentes 63
Figura 9 - Esquema de alimentação dos três reatores. Os reatores funcionaram independentemente um dos outros, mas foram alimentados a partir do mesmo tanque pulmão. 64
Figura 10 - Esquema do sistema de quantificação de metano no teste da AME realizada por deslocamento de volume de NaOH, cuja função foi de lavar o CO_2 do biogás 74
Figura 11 – Fotografia do microcrustáceo *Daphnia similis* usado nos testes de toxicidade aguda obtida mediante microscopia ótica com aumento de 10X.....75
Figura 12 – Representação didática do esquema geral de um ensaio ecotoxicológico. As diluições do efluentes (%) podem variar dependendo da toxicidade da amostra. 76
Figura 13 - Imagens do lodo floculado. A: Lodo floculado com resíduos de palha em uma placa petri. B, C e D: microscopia ótica do lodo floculado com aumentos de 40, 100 e 400 vezes, respectivamente.....77
Figura 14 - Imagens do lodo granular. Imagem A obtida por fotografia do lodo em uma placa petri. Imagens B e C obtidas por microscopia ótica em estereoscópio.....79
Figura 15 - Imagens resultante da análise com MEV dos grânulos com diferentes aumentos. 80
Figura 16 - Imagens dos suportes espuma de poliuretano (A), argila expandida (B) e pedra-pomes (C) obtidas por microscopia ótica e MEV.....82

Figura 17 - Imagens dos suportes cerâmica (D), basalto (E) e areia (F) por microscopia ótica e MEV 83
Figura 18 - Imagens de colônias aderidas aos suportes espuma de poliuretano (A) e argila expandida (B) observadas por MEV com diferentes aumentos. 85
Figura 19 - Imagens de colônias aderidas aos suportes pedra-pomes (C), cerâmica (D), basalto (E) e areia (F) observadas por MEV. Os círculos vermelhos na Imagem C2 podem representar estruturas cristalinas, geradas pela precipitação de sais de compostos inorgânicos. 86
Figura 20 - Taxa de mortalidade em relação à dose do efluente proveniente dos testes de toxicidade aguda com *D. similis* (escalas diferentes). A: Lotes 1, 2 e 3 com alta taxa de mortalidade. B: Lote 4 com baixa taxa de mortalidade. Cada ensaio foi feito em duplicata, cada uma representada com A ou B. 94
Figura 21 - Variação de DQO na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante a fase de adaptação.....97
Figura 22 - Variação de DQO removida pelos reatores em função do tempo durante a fase de adaptação 97
Figura 23 - Variação do pH na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante a fase de adaptação.....98
Figura 24 - Variação de AT na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante a fase de adaptação.....99
Figura 25 - Variação da AP na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante a fase de adaptação.....99
Figura 26 - Variação da razão AI/AP das saídas dos reatores em função do tempo durante a fase de adaptação 100
Figura 27 - Variação de pH na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente.....102
Figura 28 - Variação de AT na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente.....103
Figura 29 - Variação de AT na alimentação e na saída dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente.....103
Figura 30 - Variação de AP na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente.....105
Figura 31 - Variação de AP na alimentação e na saída dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente.....105

Figura 32 - Variação de AGV na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente 107
Figura 33 - Variação de AGV na alimentação e na saída dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente 107
Figura 34 - Variação de AI/AP nas saídas dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente 108
Figura 35 - Variação de AI/AP nas saídas dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente 109
Figura 36 - Variação de DQO_t na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente 110
Figura 37 - Variação de DQO_t na alimentação e na saída dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente 110
Figura 38 - Variação de DQO_t nos estados estacionários dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente 111
Figura 39 - Variação de DQO_d na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente 112
Figura 40 - Variação de DQO_d na alimentação e na saída dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente 113
Figura 41 - Variação da remoção de DQO_d dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente 114
Figura 42 - Variação de $gDQO.d^{-1}$ nas alimentações e nas saídas dos reatores 115
Figura 43 - Variação da remoção de $gDQO.d^{-1}$ por cada reator em cada fase em função da COV 116
Figura 44 - Variação da remoção de SV pelos reatores em função da COV 120
Figura 45 - Variação da concentração de SF ($g.L^{-1}$) na alimentação na saída dos reatores em função da COV 122
Figura 46 - Variação da remoção de ST pelos reatores em função da COV 123
Figura 47 - Variação da remoção da quantidade ST (A) e SV (B) removidos por cada reator em função da COV 125
Figura 48 - Variação da produção volumétrica de metano para cada reator em função da COV 126
Figura 49 - Variação da produção específica de metano em função do volume do reator para cada reator em função da COV 127

Figura 50 - Variação da produção específica de metano em termos de DQO removida para cada reator em função da COV 129
Figura 51 - Variação da produção específica de metano em termos de SV removidos para cada reator em cada em função da COV 131
Figura 52 - Mortalidade de *Daphnia similis* nos testes de toxicidade aguda realizados com o efluente na alimentação e nas saídas dos reatores em cada fase 132
Figura 53 - Valores de UT observados para a alimentação e para as saídas dos reatores nas 3 primeiras fases 133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização de um estrume bovino coletado por jateamento 27
Tabela 2. Vantagens e desvatagens do tratamento anaeróbio de efluentes segundo Seguezzo et al. (1998), Chernicharo (2007), Andalib et al. (2014), Moharram, Abdelhalim e Rozaik (2016) e Pang et al., (2017).....39
Tabela 3 - Composição do meio sintético utilizada para teste da AME, manutenção do lodo e na alimentação dos reatores 58
Tabela 5 - Fases do tratamento da fração líquida do estrume bovino com respectivos TDHs e COVs, respectivas vazões de alimentação e o período de duração. 66
Tabela 3 – Resumo das metodologias e equipamentos usados para as análises físicas e químicas para a análise do meio sintético, da fração líquida do estrume bovino e dos lodos. 68
Tabela 6 - Resultados das análises de potencial zeta e hidrofobicidade dos suportes estudados e do lodo floculado. 84
Tabela 7 - Resultados de imobilização de biomassa nos suportes expressos em mgSV por massa do suporte (mgSV. $g^{-1}_{suporte)}$ e por volume do suporte (mgSV. $cm^{-3}_{suporte}$); e resultados dos testes AME das colônias aderidas e do lodo floculado. 87
Tabela 8 - Caracterização de cada lote da fração líquida do esterco (previamente diluída até 5 $gDQO.L^{-1}$) usada para a alimentação dos reatores e a média final 93
Tabela 9 - Resultados dos testes de toxicidade aguda avaliado com o microcrustáceo *D. similis* da fração líquida de estrume.....95
Tabela 10 - Valores de pH da alimentação e das saídas dos reatores durante o tratamento do efluente.....101
Tabela 11 - Valores de AT da alimentação e das saídas dos reatores durante o tratamento do efluente.....102
Tabela 12 - Valores de AP da alimentação e da saída dos reatores durante o tratamento do efluente.....105
Tabela 13 - Valores de AGV (mg CH_3COOH $.L^{-1}$) da alimentação e da saída dos reatores durante o tratamento do efluente 106
Tabela 14 - Valores de AI/AP dos reatores durante o tratamento do efluente 108
Tabela 15 - Valores de remoção de DQO_t (%) dos reatores em cada fase durante o tratamento do efluente.....111

Tabela 16 - Valores de remoção de DQOd (%) dos reatores nas fases 113
Tabela 17 - Valores de $gDQO.d^{-1}$ removidos pelos reatores nas diversas fases durante o tratamento do efluente.....116
Tabela 18 - Remoção de matéria orgânica com diferentes COVs e TDHs no tratamento anaeróbio de efluentes provenientes de estrume obtida neste trabalho e por outros autores 117
Tabela 19 - Valores de SV ($g.l^{-1}$) da alimentação e dos reatores nas diversas fases durante no tratamento do efluente.....120
Tabela 20 - Valores de remoção de SV (%) pelos reatores em cada fase.....120
Tabela 21 - Valores de concentração de SF ($g.l^{-1}$) da alimentação e dos reatores nas diversas fases durante o tratamento do efluente.....122
Tabela 22 - Valores da concentração de ST ($g.l^{-1}$) da alimentação e dos reatores nas diversas fases durante o tratamento do efluente.....123
Tabela 23 - Valores de remoção de ST (%) pelos reatores nas diversas fases durante o tratamento do efluente.....123
Tabela 24 - Valores de remoção de ST ($g.d^{-1}$) pelos reatores nas diversas fases de tratamento do efluente.....124
Tabela 25 - Valores de remoção de SV ($g.d^{-1}$) pelos reatores nas diversas fases de tratamento do efluente.....124
Tabela 26 - Produção volumétrica de metano ($LCH_4.d^{-1}$) dos reatores durante o tratamento do efluente.....126
Tabela 27 - Produção específica de metano em função de volume de reator ($LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$) dos reatores nas diversas fases do tratamento do efluente 126
Tabela 28 - Produção específica de metano em termos de DQO removida ($LCH_4.gDQO_trem^{-1}$) dos reatores nas diversas fases do tratamento do efluente 129
Tabela 29 - Produção específica de metano em termos de SV removidos ($LCH_4.gSV_{rem}^{-1}$) dos reatores nas diversas fases do tratamento do efluente 130
Tabela 30 - Valores de CE_{50} (%) observados na alimentação e nos reatores durante as 3 primeiras fases do tratamento de efluente.....133
Tabela 31 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para o pH das saídas dos reatores durante o tratamento do efluente 153
Tabela 32 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a concentração de AT das saídas dos reatores durante o tratamento do efluente 153

Tabela 33 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a concentração de AP das saídas dos reatores durante o tratamento do efluente 153
Tabela 34 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a concentração de AGV das saídas dos reatores durante o tratamento do efluente 154
Tabela 35 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a remoção de DQO_t pelos reatores durante o tratamento do efluente 154
Tabela 36 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a remoção de DQOd pelos reatores durante o tratamento do efluente 154
Tabela 37 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a remoção de SV pelos reatores durante o tratamento do efluente 155
Tabela 38 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a remoção de ST pelos reatores durante o tratamento do efluente 155
Tabela 39 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a produção específica de metano em função de volume de reator durante o tratamento do efluente 155
Tabela 40 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a produção específica de metano em função de DQO removida de reator durante o tratamento do efluente 156
Tabela 41 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a produção específica de metano em função de SV removidos de reator durante o tratamento do efluente 156

LISTA DE ABREVIAÇÕES E SIGLAS

AE	Argila expandida
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AGCL	Ácidos graxos de cadeia longa
AGV	Ácidos graxos voláteis
AI	Alcalinidade intermediária
AP	Alcalinidade parcial
AT	Alcalinidade total
AME	Atividade metanogênica específica
CE_{50}	Concentração efetiva média (Concentração que causa efeito em 50% da população estudada)
COV	Carga orgânica volumétrica
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DQO	Demanda química de oxigênio
DQO_d	Demanda química de oxigênio da fração dissolvida
DQO_p	Demanda química de oxigênio da fração particulada
DQO_t	Demanda química de oxigênio total
EEL	Escola de Engenharia de Lorena
EGSB	*Expanded granular sludge bed* – Reator de leito granular expandido
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MAPA	Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MATH	*Microbial adhesion to solventes* – Adesão microbiana a solventes
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
PIB	Produto Interno Bruto
PP	Pedra pomes
PT	Fósforo total
PVC	Policloreto de vinila
RALF	Reator anaeróbio de leito fluidizado
RALF/AE	RALF com argila expandida
RALF/PP	RALF com pedra-pomes
SD	Sólidos dissolvidos

SDF	Sólidos dissolvidos fixos
SDV	Sólidos dissolvidos voláteis
SF	Sólidos fixos
SS	Sólidos suspensos
SSV	Sólidos suspensos voláteis
ST	Sólidos totais
SV	Sólidos voláteis
TDH	Tempo de detenção hidráulica
UASB	*Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor* - Reator anaeróbio de fluxo ascendente
USP	Universidade de São Paulo
UT	Unidades tóxicas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 21

2 REVISÃO DE LITERATURA 23

2.1 Bovinocultura no Brasil 23

2.1.1 Características do esterco bovino 25

2.1.2 Separação das frações líquida e sólida 27

2.2 Digestão anaeróbia 30

2.2.1 Hidrólise 31

2.2.2 Acidogênese 32

2.2.3 Acetogênese 33

2.2.4 Metanogênese 34

2.2.5 Aceptores de elétrons alternativos 34

2.2.5.1 Redução do sulfato 34

2.2.5.2 Desnitrificação 35

2.2.6 Fatores que afetam a digestão anaeróbia 35

2.2.6.1 pH 35

2.2.6.2 Temperatura 36

2.2.6.3 Nutrientes 37

2.2.6.4 TDH e COV 38

2.3 Tratamento anaeróbio de efluentes 39

2.4 Retenção de biomassa em reatores 40

2.4.1 Imobilização dos microrganismos através da formação de biofilmes em suportes 41

2.5 Reatores com biomassa imobilizada em suportes 46

2.5.1 RALF 46

2.6 Autoimobilização ou granulação 50

2.6.1 Reatores EGSB 52

3 OBJETIVOS 56

3.1 Geral 56

3.2 Específicos: 56

4 MATERIAIS E MÉTODOS 57

4.1 Descrição geral dos experimentos 57

4.2 Obtenção e armazenamento do lodo anaeróbio 57
4.3 Seleção dos suportes mais adequados para a formação de biofilme 59
4.3.1 Suportes 59
4.3.2 Procedimento usado para a imobilização de microrganismos nos suportes 59
4.4 Obtenção da fração líquida do estrume bovino utilizado como efluente 60
4.5 Características e dimensões dos reatores 61
4.5.1 Pontos de amostragem 64
4.6 Inoculação dos reatores 65
4.6.1 Reator EGSB 65
4.6.2 Imobilização da biomassa em argila expandida e pedra-pomes para inoculação nos RALFs 65
4.7 Fase de adaptação dos microrganismos em meio sintético 65
4.8 Tratamento da fração líquida do estrume bovino 66
4.9 Métodos analíticos 66
4.9.1 Análises físicas e químicas 66
4.9.1.1 Potencial zeta 66
4.9.1.2 Hidrofobicidade 67
4.9.1.3 Análises físicas e químicas do efluente bruto e do tratado 67
4.9.2 Análises por microscopia 73
4.9.2.1 Microscopia óptica 73
4.9.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) 73
4.9.3 Atividade metanogênica específica (AME) 74
4.9.4 Testes de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Daphnia similis* 75
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 77
5.1 Caraterização dos lodos anaeróbios 77
5.1.1 Lodo floculado 77
5.1.2 Lodo granular 78
5.2 Seleção dos suportes mais adequados para a formação de biofilme 81
5.2.1 Características dos suportes 81
5.2.2 Capacidade de aderência do lodo e AME da biomassa imobilizada 84
5.3 Caracterização do efluente 92
5.4 Adaptação dos reatores 96
5.5 Tratamento do efluente 101

5.5.1 Estabilidade dos reatores **101**
5.5.2 Remoção da matéria orgânica **109**
5.5.3 Remoção de sólidos **119**
5.5.4 Produção de metano **125**
5.5.5 Remoção da toxicidade **131**
6 CONCLUSÕES **136**
REFERÊNCIAS **137**
APÊNDICE A – TABELAS DE ANOVA **153**

1 INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira é considerada das mais produtivas em todo o mundo. Por motivos históricos socioeconômicos e geográficos, mantém-se como uma atividade de relevância no cenário nacional e, também, apresenta desdobramentos significativos no âmbito do comércio internacional.

Dentro desse setor, destaca-se a bovinocultura como a atividade com maior valor bruto de produção. O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo, com mais de 200 milhões de cabeças. Essa atividade envolve a pecuária de corte, que consiste na criação de animais com o objetivo de fornecer carne, e a pecuária de leite, que está ligada à produção leiteira e derivados. O país é o principal produtor de carne e um dos principais produtores de leite do mundo.

A bovinocultura está cada vez mais interligada ao meio industrial e é cada vez mais dependente das transformações das técnicas e dos recursos tecnológicos. A pecuária de carne e a de leite são base para muitas cadeias produtivas de elevado peso dentro do agronegócio, gerando uma grande quantidade de oportunidades e empregos.

No entanto, além dos grandes benefícios econômicos provenientes do setor, há preocupações ambientais relacionadas à inadequada gestão dos dejetos gerados pelos animais, que podem ocasionar poluição em solos, em corpos de água e na atmosfera. Quando o esterco é coletado por jateamento, são gerados grandes volumes de lodo, os quais dificultam seu armazenamento ou destino. A separação das frações líquida e sólida do estrume propicia a obtenção de duas frações mais facilmente manejáveis que o estrume bruto. Os processos mais comumente usados para a separação são os mecânicos e os químicos, os quais aumentam o custo do processo.

A digestão anaeróbia se apresenta como uma alternativa viável para o tratamento da fração líquida desses resíduos, pois poderia atenuar o impacto ambiental e, ao mesmo tempo, gerar energia. A eficiência do tratamento está altamente influenciada pelo tipo de reator utilizado. Os reatores de alta taxa têm se mostrado mais eficientes que os reatores convencionais, porque removem maior quantidade de matéria orgânica em TDHs baixos e COVs altas.

Uma das características dos reatores de alta taxa, que promove alto desempenho, é sua capacidade de reter a biomassa dentro deles. Um mecanismo que proporciona a retenção da biomassa é a sua imobilização em suportes ou grânulos. A adesão de microrganismos em suportes depende das suas características e as dos suportes. A escolha dos suportes que

promovam maior adesão de biomassa e maior atividade microbiana é vital para estimular o máximo desempenho dos reatores.

Dentre os reatores de alta taxa com biomassa imobilizada, destacam-se os reatores o EGSB e os RALFs O primeiro utiliza biomassa imobilizada em suportes, enquanto que o segundo, biomassa imobilizada em grânulos. Ambos os reatores promovem melhor contato entre os microrganismos e o meio e melhores taxas de transferência de massa e temperatura. Esses reatores têm se mostrado eficientes no tratamento de diversos efluentes com diferentes condições de operação, mas não têm sido testados no tratamento da fração líquida do estrume bovino.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bovinocultura no Brasil

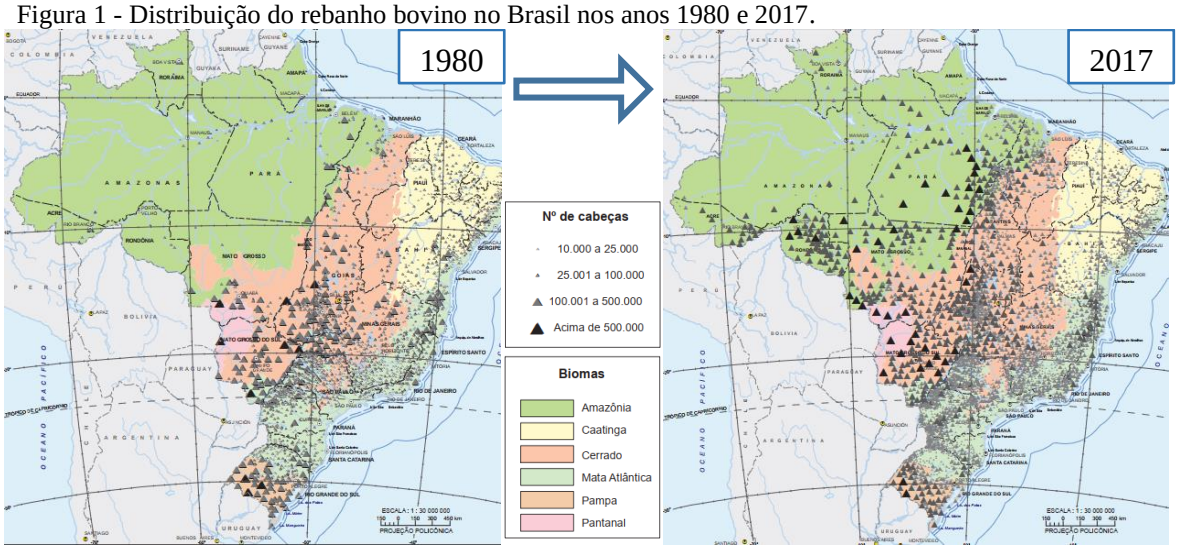
A criação de gado é, sem dúvida, uma das principais atividades econômicas no Brasil. No ano 2018, o Produto Interno Bruto (PIB) da pecuária de corte representou 8,7% do PIB total (ABIEC, 2019). O Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA (MAPA, 2019) reportou que o valor bruto proveniente da produção de bovinos no ano 2018 foi de mais de R$ 76 bilhões e que no ano 2019 superaria os R$ 78 bilhões. No ano 2018, o sistema agroindustrial da carne bovina movimentou cerca de R$ 600 bilhões (ABIEC, 2019).

O Brasil é o maior exportador e segundo maior produtor de carne bovina, de acordo com os dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2019). Segundo o IBGE (2017), no ano 2017 foram abatidas 29,7 milhões de cabeças em todo o país. Nos próximos anos, a expectativa é que a produção de carne no Brasil continue em crescimento (MAPA, 2017).

Por outro lado, o Brasil é o sexto maior produtor mundial de leite. No ano 2017 produziu 33,5 bilhões de litros e o valor bruto da produção de leite estimado para o 2019 é de R$ 31,30 bilhões (CONAB, 2019). As regiões Sul e Sudeste encabeçam a produção nacional, com 35,7% e 34,2% do total de litros, respectivamente (IBGE, 2017). Segundo as "Projeções do agronegócio" (MAPA, 2017) a produção de leite deverá crescer nos próximos 10 anos a uma taxa anual entre 2,1 e 3,0%, pois ainda existe muita tecnologia para ser incorporada.

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino no mundo (USDA, 2019). Entre os anos 1990 e 2017, a quantidade cresceu de 147 para 215 milhões (IBGE, 2017). Segundo o MAPA (2017) no período de 1975 a 2015, o desenvolvimento e utilização da tecnologia permitiram o crescimento de 58,4% na produção agropecuária. Assim, por exemplo, cultivos de gramíneas mais produtivas provenientes do melhoramento genético e o desenvolvimento do manejo sanitário do rebanho permitiram que as regiões Norte e Centro-Oeste comportassem grandes quantidades de bovinos (EUCLIDES FILHO, 2007), como pode ser visto na Figura 1.

Figura 1 - Distribuição do rebanho bovino no Brasil nos anos 1980 e 2017.



Fonte: Adaptado de IBGE (2019)

Além da produção de carne e leite, o estrume produzido pelos bovinos pode ser considerado como um subproduto do setor pecuário (FLOTATS et al., 2009), amplamente usado como fertilizante e para melhorar as propriedades do solo, pois promove o desenvolvimento da microflora, ajuda na retenção de nutrientes e melhora a compactação e estrutura do solo (PETTYGROVE; HEINRICH; EAGLE, 2009; CHEROBIM; HUANG; FAVARETTO, 2017; SCHLEGEL et al., 2017). O uso do estrume como fertilizante está limitado aos requerimentos nutricionais dos campos e cultivos, à vulnerabilidade dos ecossistemas e ao gasto energético necessário para sua aplicação (CASTRILLON et al., 2009; FLOTATS et al., 2009; LOYON, 2017). Porém, o esterco pode ser transportado a outras áreas com déficits de nutrientes, apesar do aumento de custo (MOLLER et al., 2000).

A produção de estrume de bovinos confinados corresponde de 5 a 6% do seu peso corporal, isso equivale, em média, 5,5 kg de massa seca de estrume por dia. Enquanto que a produção de estrume de uma vaca leiteira é entre 7 e 8% do seu peso, que equivale a 7,3 kg de estrume por dia (FONT-PALMA, 2019). Nos Estados Unidos, no 2009, foram produzidos cerca de 24 bilhões de toneladas de esterco leiteiro por ano (CARLIN et al. 2009). Estima-se que a produção de esterco no Brasil seja muito maior, pois o rebanho brasileiro é 2,5 vezes maior que o rebanho dos Estados Unidos (USDA, 2019).

A gestão, o armazenamento e o transporte inadequados do estrume representam um constante risco de poluição com alto potencial negativo para o meio ambiente (HOLM-NIELSEN; SEADI; OLESKOWICZ-POPIEL, 2009; CASTRILLON et al., 2009). Os dejetos podem causar poluição atmosférica, deterioração das características do solo e poluição de águas superficiais ou subterrâneas (FONT-PALMA, 2019). A sua aplicação em

excesso no solo pode provocar diminuição na sua impermeabilidade, o que acarreta a perda de água e nutrientes por lixiviação (RISBERG et al., 2017; CHEROBIM et al., 2018).

Durante armazenamento prolongado, a degradação natural do esterco gera a emissão de metano e amônia, que são poluentes atmosféricos (MOLLER et al., 2004; MARAÑÓN et al., 2011; KNAPP et al., 2014; HE; PAGLIARI; WALDRIP, 2016). Ademais, o escoamento do esterco causado por chuvas e a alta concentração de nutrientes no solo causada pela aplicação em excesso conduzem à eutrofização dos corpos hídricos (aumento na concentração de nutrientes) e a sua poluição (RICO et al., 2007).

Devido ao impacto ambiental relacionado à qualidade da água, os produtores pecuários precisam monitorar e controlar os despejos (PETTYGROVE; HEINRICH; EAGLE, 2009). O tratamento e o reuso dos dejetos são formas de diminuir as emissões de gases de efeito estufa e a lixiviação de nutrientes no solo (HOLM-NIELSEN; SEADI; OLESKOWICZ-POPIEL, 2009; RICO, C.; GARCIA; RICO, J.L., 2011; LOYON, 2017). Um método amplamente utilizado na gestão do estrume bovino é a aplicação de sistemas de digestão anaeróbia (DUGBA; ZHANG, 1999; PETTYGROVE; HEINRICH; EAGLE, 2009). A utilização desse processo com recuperação de biogás é um modo efetivo de aproveitar o resíduo reduzindo as emissões de gases e os patógenos e melhorando a qualidade da água (MOLLER et al., 2004; HOLM-NIELSEN; SEADI; OLESKOWICZ-POPIEL, 2009).

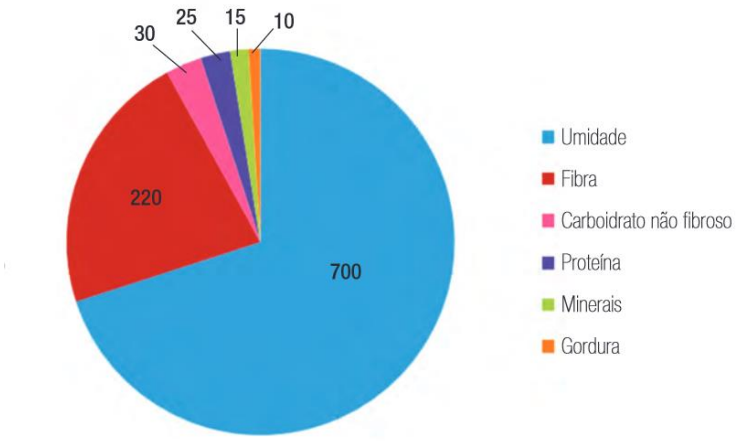
2.1.1 Características do esterco bovino

O estrume ou esterco bovino é uma mistura de substâncias não digeridas da dieta bovina, microrganismos do trato digestivo e produtos do metabolismo (ZHANG; WESTERMAN, 1997; HE; PAGLIARI; WALDRIP, 2016). Entretanto, ao cair ao chão e ao ser coletado, o estrume fresco se mistura com resíduos de comida, palha, material da cama, dejetos líquidos, entre outros. Assim, a composição depende da dieta dos animais, das condições nas quais os animais são mantidos nas fazendas, dos materiais usados nas camas e dos métodos de coleta (ZHANG; WESTERMAN, 1997; RICO et al., 2007; GARCIA H. et al., 2008; CASTRILLON et al., 2009; HE; PAGLIARI; WALDRIP, 2016).

A dieta desses animais é definida de acordo com os requerimentos nutricionais necessários para o atendimento da função produtiva do animal. Os alimentos comumente utilizados são forragem e grãos (MEDEIROS; GOMES; BUGENSTAB, 2015). As dietas são geralmente ricas em teores de fibras, como pode ser observado na composição de uma

análise usual de 1 kg de forragem tropical (Figura 2). As fibras são compostas por lignina, celulose e hemicelulose.

Figura 2 – Representação dos principais nutrientes de um 1kg de uma forrageira tropical na alimentação de ruminantes.



Fonte: Medeiros; Gomes; Bugenstab, 2015

O aproveitamento desse alimento fibroso pelos animais é realizado pela fermentação celulolítica, própria do trato digestivo dos ruminantes, que permite a metabolização da celulose (THIAGO, 1996). No entanto, grande parte desses alimentos não são assimilados e são excretados. Assim, no estrume há alto teor de matéria orgânica, principalmente celulose e lignina, parcialmente digerida, além de teores relativamente altos de nutrientes, tais como nitrogênio e fósforo (MARTINEZ et al., 2009).

As características do local e do modo de confinamento também influenciam a quantidade e as características do estrume. Os tipos de confinamentos mais comuns são as baias individuais com confinamento total *(tie stall*), celeiros com baias livres (*free-stall*), confinamento em estábulos com áreas livres (*loose housing*), estábulos feitos com material de compostagem (*compost barn*) e pastos abertos. Nos quatro primeiros é possível aproveitar, aproximadamente, 100% do estrume gerado nos celeiros e de 40 a 45% nos currais. No entanto, nos pastos abertos a porcentagem de aproveitamento é praticamente nula, devido, principalmente, à dificuldade da coleta (MOTA et al., 2017).

Os resíduos nos celeiros podem ser coletados por meios mecânicos (raspagem) ou jateamento hidráulico (*flushing*) (RICO et al., 2007). Na raspagem, o esterco é coletado mecanicamente por pás ou raspadores acoplados a tratores. No jateamento consiste na lavagem do esterco, que acaba provocando a sua diluição. O lodo gerado (esterco diluído) é normalmente armazenado em lagoas de estabilização ou lagoas anaeróbias (PETTYGROVE; HEINRICH; EAGLE, 2009). Segundo Van Horn et al. (1994) o

jateamento é o método mais simples e demanda menos mão de obra. Na Tabela 1 é mostrada a caraterização de estrume bovino coletado por jateamento. Nota-se que, apesar de estar diluído, esse efluente apresenta alto teor de matéria orgânica.

Tabela 1 - Caracterização de um estrume bovino coletado por jateamento

Parâmetro	Unidade	Média
pH		7,44
Demanda química de oxigênio total (DQO_t)	mg. L^{-1}	3530
DQO da fração dissolvida (DQO_d)	mg. L^{-1}	1310
DQO da fração particulada (DQO_p)	mg. L^{-1}	2220
Alcalinidade Total (AT)	mg [$CaCO_3$]. L^{-1}	1270
Condutividade elétrica	µS. cm^{-1}	2670
Sólidos totais (ST)	mg. L^{-1}	3580
Sólidos voláteis (SV)	mg. L^{-1}	2210
Sólidos fixos (SF)	mg. L^{-1}	1370
Sólidos suspensos (SS)	mg. L^{-1}	1810
Sólidos suspensos voláteis (SSV)	mg. L^{-1}	1430
Sólidos dissolvidos (SD)	mg. L^{-1}	1770
Sólidos dissolvidos voláteis (SDV)	mg. L^{-1}	771
Sólidos dissolvidos fixos (SDF)	mg. L^{-1}	996

Fonte: Adaptado de Wilkie et al. (2004)

Estima-se que o uso de água no jateamento em uma fazenda leiteira é de aproximadamente 300 L por vaca por dia (TECHNOLOGY FOCUS, 2014). O uso de grandes quantidades de água para a lavagem de estrume eleva os custos de transporte e armazenamento. Ainda, os grandes volumes diluídos de lodo inviabilizam as tecnologias de digestão anaeróbia tradicionais, não sendo economicamente viáveis devido à necessidade de digestores de grande volume, com sistemas de aquecimento (WILKIE et al., 2004; MA et al., 2013). Por outro lado, o teor de sólidos desse líquido ainda é alto, para que possa ser tratado em reatores anaeróbios de alta taxa com baixos tempos de detenção hidráulica (TDH), ademais, a acumulação desses sólidos poderiam causar problemas de entupimento nos equipamentos. Uma forma de resolver o problema é a separação das frações líquida e sólida do estrume por métodos mecânicos ou químicos.

2.1.2 Separação das frações líquida e sólida

A separação das frações permite remover uma grande quantidade sólidos orgânicos da fração líquida promovendo geração de sólidos orgânicos ricos em nutrientes, redução de odores nos poços ou lagoas, e favorece os aspectos econômicos dos tratamentos posteriores

(ZHANG; WESTERMAN, 1997). A separação de sólidos permite a obtenção de duas frações mais facilmente manejáveis que o estrume bruto (VAN HORN et al., 1994).

Estrumes coletados por jateamento são mais facilmente peneirados porque estão mais diluídos. O fluido abundante favorece a separação dos sólidos finos e coloidais das fibras mais longas (RICO et al., 2007; RICO et al., 2012). Assim, a eficiência da separação de fases é maior em estercos líquidos que em estercos coletados por raspagem.

Os processos de separação das frações são mecânicos ou químicos (GARCIA H. et al., 2008). Dentre os métodos mecânicos, destaca-se o peneiramento como método mais utilizado. A eficiência do peneiramento está baseada no tamanho da abertura da peneira, na velocidade do fluxo, na concentração de sólidos e o tamanho das partículas do estrume (RICO et al., 2012). Esse processo pode remover a maioria dos sólidos flutuantes (LIAO; LO, 1987). Dentre os processos químicos, destacam-se a coagulação e floculação que apresentam maior eficiência de separação, mas também implicam custos mais elevados (RICO et al., 2007; RICO, C.; RICO J. L; LASA, 2012).

A fração sólida resultante da separação pode ser transportada e usada como fertilizante, e como substrato em usinas de produção de biogás. O custo de transporte é menor, pois a fração desidratada apresenta volumes menores que o estrume bruto (RICO,C.; GARCIA; RICO, J. L., 2011). A desidratação do material também incrementa eficiência energética nos processos de combustão (RICO et al., 2007).

A remoção de sólidos maiores do estrume resulta em matéria orgânica líquida majoritariamente solúvel (RICO, C.; GARCIA; RICO, J.L., 2011). Isso facilita a ação de microrganismos na degradação da matéria orgânica. O tratamento da fração líquida é mais simples e econômico que o tratamento do esterco bruto (RICO et al., 2012). Ademais, com tratamentos adequados, a fração líquida poderá ser mais facilmente reutilizada ou despejada em corpos hídricos, segundo as normas ambientais estabelecidas (GARCIA H. et al., 2008).

O uso da digestão anaeróbia tem se mostrado eficiente no tratamento da fração líquida do estrume bovino. Esse processo é favorecido pela remoção de sólidos, a qual facilita a produção de metano e promove a qualidade do biogás gerado (LIAO; LO; CHIENG, 1984; LO; LIAO, 1985; LIAO; LO, 1987; WILKIE et al., 2004; RICO et al., 2007; RICO et al., 2011).

Wilkie et al. (2004) concluiram que a digestão anaeróbia em reatores de leito fixo é uma alternativa viável para o tratamento da fração líquida do estrume coletado por jateamento, pois fornece benefícios em termos de produção de energia, na estabilização do resíduo e no controle de odores. Ainda, mencionaram que o tratamento anaeróbio conserva

as características do efluente para ser usado como fertilizante, pois não há grande remoção de nutrientes. Porém, uma fração da matéria orgânica composta principalmente por material lignocelulósico não será totalmente degradada (MOLLER et al., 2004; LIU et al., 2017).

Garcia H. et al. (2008) estudaram dois reatores UASB (Reator anaeróbio de fluxo ascendente), um com a biomassa livre e outro com a biomassa sob adição de poliacrilamida a qual foi usada para promover maior sedimentabilidade, no tratamento da fração líquida de esterco, separado por meios químicos e físicos (floculação e peneiramento). O tratamento da biomassa com poliacrilamida resultou no aumento de sua retenção no reator. Os dois reatores apresentaram remoção máxima de DQO entorno de 87%, porém, o reator com biomassa tratada removeu maior quantidade de SV. Ambos os reatores apresentaram produção similar de metano de cerca de 0,36 L de CH_4 por grama de DQO removida. Contudo, o reator com a biomassa tratada mostrou-se mais estável em relação às mudanças das condições de operação.

Umaña et al. (2008) avaliaram a eficiência de reatores de leito fixo no tratamento da de estrume bovino diluído sem separação de fases, essa diluição evitou o entupimento do reator. A remoção de DQO e DBO (demanda bioquímica de oxigênio) foi de cerca de 80 e 90%, respectivamente. Esse tipo de reator foi capaz de operar com TDHs 5 vezes menores que os reatores convencionais no tratamento do mesmo efluente.

Rico C., Garcia e Rico J.L. (2011) estudaram o desempenho de um reator UASB a 35ºC no tratamento da fração líquida de estrume separada por floculação e peneiramento. Observaram remoção máxima de DQO 87%, com produção de 0,28 L de CH_4 por grama de DQO removida. A fração sólida do estrume, com 95% dos nutrientes do estrume bruto, apresentou características promissoras para ser utilizado como fertilizante. Em um estudo similar ao anterior, Rico C., Rico J.L. e Lasa (2012) reportaram remoção de até 82% da DQO com produção de 0,28 L de CH_4 por grama de DQO removida em um reator UASB a 25ºC. Ambos os trabalhos reportaram que a separação permitiu o uso de reatores menores, mais eficientes e com maior produção de metano que os reatores convencionais.

Vidal (2015) estudou um reator anaeróbio híbrido de alta taxa no tratamento da fração líquida de esterco bovino separada por peneiramento. A remoção de DQO foi satisfatória, chegando a valores de 90%. Observaram que o acúmulo de sólidos dentro do reator reduziu a capacidade de transferência de massa e produtividade de biogás. Dias (2017) também avaliou um reator anaeróbio híbrido no tratamento do mesmo efluente, mas a remoção de DQO e a produção de metano foram menores. Entretanto, afirmou que a produção de metano foi promissora para ser usada no fornecimento de energia.

Na literatura consultada, não foram encontrados trabalhos que relatem o uso de reatores anaeróbios de leito fluidizado ou reatores de leito granular expandido no tratamento da fração líquida do estrume bovino. Assim, surge o impulso para estudar o desempenho desses reatores no tratamento desse efluente.

Para promover o envolvimento do leitor no assunto, na revisão bibliográfica, serão abordados conteúdos considerados pertinentes, tais como digestão e tratamento anaeróbio, retenção de biomassa em reatores e reatores de leito fluidizado e de leito granular expandido.

.

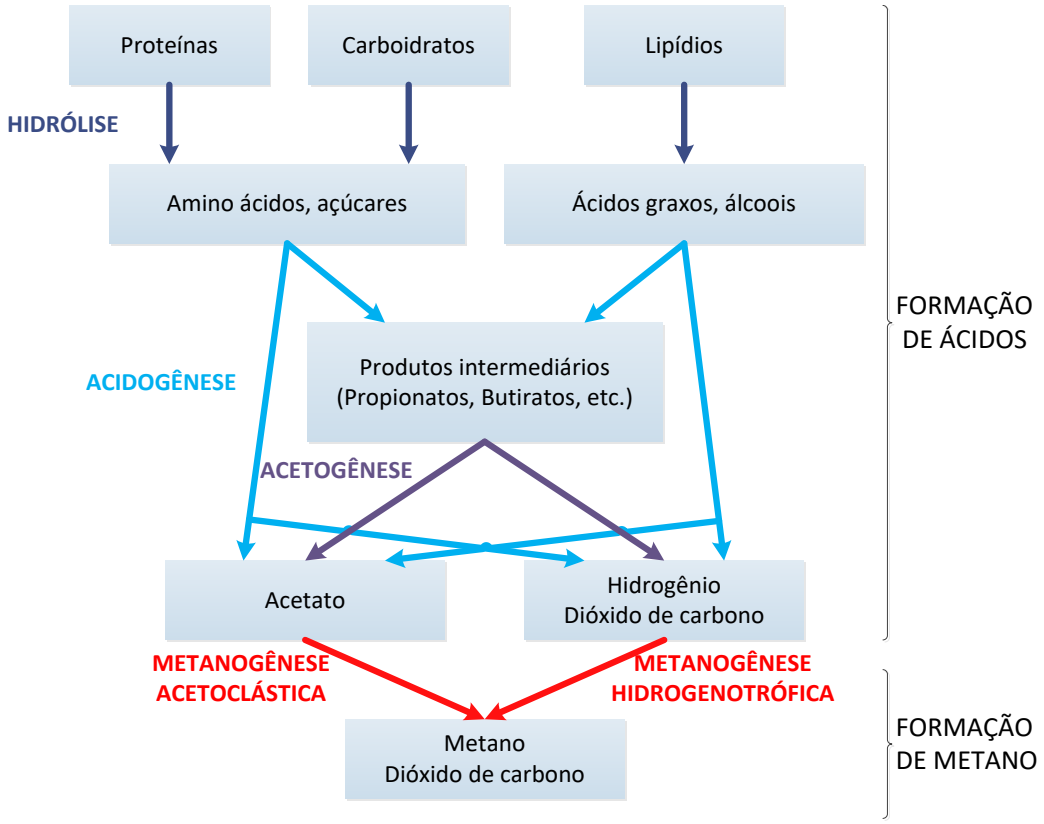
2.2 Digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo biológico natural que tem como finalidade a degradação da matéria orgânica e, ao mesmo tempo, a formação de biogás que é composto, principalmente, por metano e dióxido de carbono (MOSEY, 1983). Para que a digestão anaeróbia com produção de metano aconteça é necessária a ausência de aceptores inorgânicos diferentes do HCO_3^-, tais como, o oxigênio molecular, nitratos, sulfatos e íons metálicos oxidados (STAMS, 1994). A produção de metano é uma das grandes vantagens deste processo já que o metano é considerado fonte para a produção de energia.

Durante o processo de digestão anaeróbia, a matéria orgânica é metabolizada para produzir energia, aproveitada nos processos vitais dos microrganismos e na produção de biogás. O processo é mediado por diferentes grupos de microrganismos em distintas etapas. A comunidade microbiana envolvida se caracteriza por ser um sistema cuidadosamente balanceado, onde diferentes populações de microrganismos têm funções específicas (HARPER; POHLAND, 1986).

A digestão pode ser explicada simplificadamente como um processo de dois estágios (Figura 3). No primeiro, ocorre a formação de ácidos nas fases de hidrólise, acidogênese e acetogênese; e no segundo, os ácidos formados são transformados em metano e CO_2 na metanogênese (SONG; KWON; WOO, 2004; SALOMONI et al., 2011). A eficiência da digestão anaeróbia depende da conversão dos compostos orgânicos em precursores imediatos, principalmente ácidos graxos de cadeia curta, para a produção de metano (FORESTI et al., 1999). Os microrganismos metanogênicos usam como substratos os produtos formados pelos microrganismos acidogênicos e acetogênicos e dessa forma se estabelecem associações sintróficas importantes para o equilíbrio da digestão.

Figura 3 - Esquema geral das fases de hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese dentro do processo de digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado de Gujer e Zehnder (1983)

2.2.1 Hidrólise

Nesta fase, os substratos poliméricos complexos, particulados ou dissolvidos, são convertidos em compostos mais simples. Os sólidos orgânicos complexos são insolúveis e inacessíveis para as bactérias acidogênicas, uma vez que não conseguem se difundir para o interior da célula. A degradação ou hidrólise desses compostos é realizada por enzimas extracelulares produzidas e excretadas pelas bactérias hidrolíticas. Essas enzimas transformam os sólidos complexos em compostos mais simples que podem ser transportados para o interior das bactérias acidogênicas (EASTMAN; FERGUSON, 1981). Dessa forma as proteínas são hidrolisadas a aminoácidos, os polissacarídeos a açúcares mais simples e os lipídeos a ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) (Figura 3).

A fase de hidrólise é usualmente a fase limitante nos processos de tratamento anaeróbio de efluentes que contêm altas concentrações de sólidos suspensos e substâncias particuladas, devido à dificuldade das enzimas em acessar as estruturas dos sólidos e

hidrolisar os compostos (CHERNICHARO, 2007; ADEKUNLE; OKOLIE, 2015). Quando a concentração de sólidos é muito alta ou as partículas são muito grandes, é necessária a utilização de pré-tratamentos para facilitar a hidrólise. Esses pré-tratamentos podem envolver gradeamento, trituração, peneiramento, decantação, floculação e coagulação, entre outros (CHERNICHARO, 2007).

2.2.2 Acidogênese

A acidogênese é a fase mais rápida e a que gera mais energia. Os produtos formados na hidrólise e transportados para o interior das células são fermentados ou anaerobicamente oxidados. Os principais produtos da acidogênese são ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), íons hidrogênio, hidrogênio molecular e dióxido de carbono. Na grande maioria dos consórcios microbianos, as bactérias são estritamente anaeróbias, mas há algumas bactérias facultativas que acabam sendo essenciais para garantir o equilíbrio redox. Alguns exemplos das reações que acontecem na acidogênese a partir da sacarose são apresentadas nas equações 1, 2 e 3 (LIER; MAHMOUD; ZEEMAN, 2008). Nessas equações, os produtos principais são o acetato, o propionato e a mistura de ambos.

$$C_{12}H_{22}O_{11} + 9H_2O \rightarrow 4CH_3COO^- + 4HCO_3^- + 8H^+ + 8H_2 \qquad \text{Eq. 1}$$

$$C_{12}H_{22}O_{11} + 5H_2O \rightarrow 2CH_3CH_2COO^- + 4HCO_3^- + 6H^+ + 4H_2 \qquad \text{Eq. 2}$$

$$C_{12}H_{22}O_{11} + 3H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + 2CH_3CH_2COO^- + 2HCO_3^- + 6H^+ + 2H_2 \qquad \text{Eq. 3}$$

Durante essa fase, é produzida uma grande quantidade de H_2. Por equilíbrio químico, se a concentração de H_2 no meio for alta, haverá maior produção de compostos reduzidos tais como propionatos e butiratos. Há duas formas pelas quais o hidrogênio pode ser consumido: (1) na metanogênese onde os microrganismos metanogênicos hidrogeneotróficos usam H_2 e CO_2 para produzir metano (Equação 11), e (2) através da formação de ácidos orgânicos usando H_2, CO_2 e acetato (Equações 4, 5 e 8) (MOSEY, 1983). Esse conjunto de mecanismos de remoção de H_2 é chamado de transferência de hidrogênio interespécie (THIELE; ZEIKUS, 1988).

A produção de ácidos na acidogênese é mais rápida que a formação de metano, o que pode provocar a acumulação de ácidos no meio e, consequentemente, queda de pH. Quando o pH do meio é ácido, parte dos AGCCs se encontram protonados ou não ionizados. A forma não ionizada desses ácidos é inibidora das reações da metanogênese (FORESTI, et al., 1999).

A inibição dessas reações acarreta maior acumulação de ácidos graxos e diminuição do pH (LIER; MAHMOUD; ZEEMAN; 2008). Dessa forma, é importante manter o pH em faixas adequadas para garantir a estabilidade das associações sintróficas e equilíbrio das populações microbianas.

2.2.3 Acetogênese

Dentre os principais produtos formados na acidogênese, apenas o H_2 e o acetato podem ser utilizados diretamente pelos microrganismos metanogênicos. Portanto, os outros AGCCs produzidos e os outros compostos serão transformados em ácido acético e hidrogênio pelas bactérias acetogênicas.

A fase de acetogênese consiste, principalmente, na conversão dos AGCCs a acetato, dióxido de carbono e hidrogênio (CHERNICHARO, 2007). Os substratos mais importantes são o propionato e o butirato, mas lactato, etanol, metanol, H_2 e CO_2 também podem ser convertidos a acetato (Equações 4, 5, 6, 7 e 8) (LIER; MAHMOUD; ZEEMAN, 2008).

Butirato: $$CH_3CH_2CH_2COO^- + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$$ Eq. 4

Propionato: $$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$$ Eq. 5

Metanol: $$4CH_3OH + 2CO_2 \rightarrow 3CH_3COO^- + 3H^+ + 2H_2O$$ Eq. 6

Lactato: $$CH_3CHOHCOO^- + 2H_2O \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 2H_2$$ Eq. 7

H_2/CO_2: $$2HCO_3^- + H^+ + 4H_2 \rightarrow CH_3COO^- + 4H_2O$$ Eq. 8

Os AGCLs são convertidos a acetato por um grupo de bactérias acetogênicas específicas mediante a β-oxidação, na qual moléculas de acetato são obtidas a partir da clivagem oxidativa da cadeia alifática dos AGCLs. Na equação 9 é mostrado um exemplo de reação na qual se produzem 8 moléculas de acetato a partir de uma molécula de palmitato.

Palmitato: $$CH_3(CH_2)_{14}COO^- + 14H_2O \rightarrow 8CH_3COO^- + 7H^+ + 14H_2$$ Eq. 9

Assim como na acidogênese, as associações entre as bactérias acetogênicas e metanogênicas produtoras e consumidoras de H_2, respectivamente, regulam a concentração desse gás.

2.2.4 Metanogênese

Nessa fase, a matéria orgânica do meio é finalmente transformada em metano. Este composto apresenta pouca solubilidade em água e, portanto, é liberado do meio líquido em forma de gás. A metanogênese é estritamente anaeróbia. Os microrganismos dessa fase são importantes tanto na produção de metano, como na manutenção do equilíbrio da digestão anaeróbia, já que são responsáveis pelo consumo do hidrogênio formado nas fases anteriores.

Os microrganismos metanogênicos são divididos em dois grupos: a) metanogênicos acetoclásticos (transformam o acetato em CH_4 e CO_2) (Equação 10) e b) metanogênicos hidrogenotróficos (transformam o CO_2 em CH_4 usando o H_2 como doador de elétrons) (Equação 11). Aproximadamente 70% do metano é produzido pelo primeiro grupo (JERIS; McCARTY, 1965; SMITH; MAH, 1966), mas a taxa de crescimento desse grupo é baixa com tempos de geração de vários dias. Os microrganismos metanogênicos hidrogenotróficos têm taxas de crescimentos mais rápidas e o tempo de geração desses microrganismos varia de 4 a 12 horas.

Metanogênicos acetoclásticos: $$2CH_3COO^- + 2H_2O \rightarrow 2CH_4 + HCO_3^-$$ Eq. 10

Metanogênicos hidrogenotróficos: $$CO_2 + 4H_2 \rightarrow 2CH_4 + 2H_2O$$ Eq. 11

2.2.5 Aceptores de elétrons alternativos

Nas comunidades microbianas da digestão anaeróbia podem haver outros tipos de microrganismos diferentes aos microrganismos próprios da digestão, o que pode causar disputa pelo substrato. Esses microrganismos possuem diferentes vias metabólicas e usam diferentes aceptores de elétrons tais como oxigênio (bactérias facultativas), sulfato e sulfito (bactérias redutoras de sulfato), nitrato (bactérias denitrificantes) e ferro (bactérias redutoras de ferro) (STAMS, 1994). Em condições anaeróbias, o oxigênio não está disponível para ser aceptor de elétrons, então o uso de oxigênio como aceptor de elétron é baixo.

2.2.5.1 Redução do sulfato

As bactérias redutoras de sulfato, na presença de sulfato, sulfito ou tiossulfato, são capazes de usar compostos intermediários do processo de digestão anaeróbia (exemplos nas equações 12-15) para transformar o sulfato em sulfeto de hidrogênio (H_2S). Dessa forma, concorrem pelo substrato com os microrganismos metanogênicos. Ademais, o H_2S é inibidor do processo de produção de metano e isto pode afetar a produção de metano e a qualidade do biogás devido à sua presença.

$$SO_4^{2-} + 4H_2 + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O \quad \text{Eq. 12}$$

$$SO_4^{2-} + CH_3COO^- \rightarrow HS^- + 2HCO_3^- \quad \text{Eq. 13}$$

$$4SO_3^{2-} + H^+ \rightarrow 3SO_4^{2-} + HS^- \quad \text{Eq. 14}$$

$$S_2O_3^{2-} + H_2O \rightarrow SO_4^{2-} + HS^- \quad \text{Eq. 15}$$

2.2.5.2 Desnitrificação

Algumas bactérias possuem a enzima nitrato redutase que lhes permite usar o nitrato como aceptor de elétrons (NELSON; NAKHLA; ZHU, 2017). A desnitrificação acontece apenas se o efluente contém nitrato e com os microrganismos desnitrificantes. O processo de desnitrificação é dado através da reação representada na equação 16. Nas equações 17 e 18 são mostrados exemplos. O N_2 produzido é liberado do sistema em forma de gás. Esse processo sucede em condições anóxicas, já que o oxigênio inibe a enzima nitrato redutase.

$$NO_3^- + C_aH_bO_cN_d \xrightarrow[\text{nitrato redutase}]{} CO_2 + H_2O + NH_3 + N_2 + OH^- \quad \text{Eq. 16}$$

$$CH_3OH + 2NO_2^- \rightarrow N_2 + CO_3^{2-} + 2H_2O \quad \text{Eq. 17}$$

$$5CH_3OH + 6NO_2^- \rightarrow 3N_2 + 4HCO_3^- + CO_3^{2-} \quad \text{Eq. 18}$$

2.2.6 Fatores que afetam a digestão anaeróbia

Segundo Foresti et al. (1999) o pH, a temperatura e os nutrientes são os fatores que mais influenciam o processo de digestão anaeróbia. A digestão anaeróbia em reatores também é afetada pelo tempo de detenção hidráulica e pela carga orgânica volumétrica.

2.2.6.1 pH

A importância do pH é refletida em dois aspectos (CHERNICHARO, 2007). O primeiro está relacionado com a atividade enzimática dos microrganismos, pois as enzimas apresentam maior atividade em determinadas faixas de pH. O segundo aspecto está relacionado com a geração de compostos ionizados ou não ionizados em diferentes faixas de pH, pois existem compostos que podem ser tóxicos em alguma das situações.

As bactérias presentes na hidrólise, na acidogênese e na acetogênese apresentam crescimento e atividade ótimos na faixa de pH entre 5,0 e 6,0, enquanto que os microrganismos metanogênicos têm crescimento ótimo entre 6,6 e 7,4. Contudo, a faixa para a produção estável de metano encontra-se entre 6,0 e 8,0. Valores de pH fora dessa faixa

devem ser evitados, uma vez que inibem a produção de metano (VON SPERLING, 2005; SPEECE, 1983).

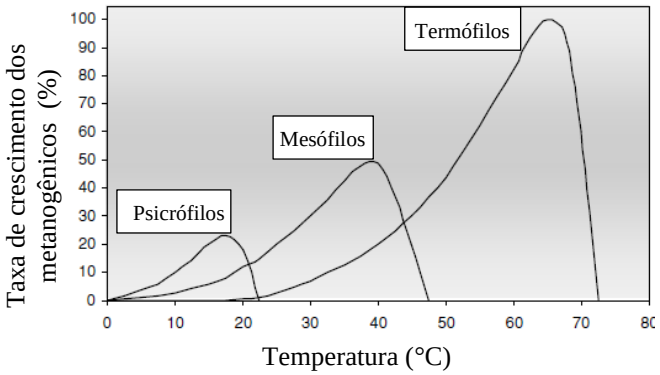
A concentração dos ácidos voláteis e a alcalinidade do meio estão diretamente relacionadas ao pH. Durante a degradação anaeróbia são formados ácidos voláteis como produtos intermediários e, se não houver estabilidade no consórcio microbiano, esses ácidos podem ser acumulados no sistema. A alcalinidade (capacidade de alguma solução para neutralizar ácidos) do sistema neutraliza os ácidos e, dessa forma, impede que a acumulação de ácidos provoque diminuição do pH. No entanto, se a alcalinidade do meio não for suficiente para neutralizar o teor de ácidos, haverá ácidos não neutralizados que poderão provocar queda do pH. Assim, o acúmulo de ácidos e/ou a baixa alcalinidade do meio podem causar variação do pH e resultar na falência do sistema (RAJESHWARI et al., 2000).

Além da própria alcalinidade do meio, alguns produtos podem ser utilizados para controlar o pH e a alcalinidade dos processos anaeróbios. Os principais são $Ca(OH)_2$, CaO, Na_2CO_3, $NaHCO_3$, NaOH e NH_4HCO_3 (CHERNICHARO, 2007).

2.2.6.2 Temperatura

Os microrganismos não são capazes de regular a sua temperatura interna e dependem da temperatura ambiente. Geralmente, podem ser classificados de acordo com as temperaturas nas quais sobrevivem: os psicrófilos sobrevivem em temperaturas entre 4 e 20°C, os mesófilos entre 30 e 40°C, os termófilos entre 55 e 70°C e os termófilos extremos em temperaturas maiores a 70°C. As melhores taxas de crescimento microbiano na digestão anaeróbia têm sido observadas entre 30-35°C para microrganismos mesófilos e 60-70°C para microrganismos termófilos (Figura 4). Assim como o crescimento, a taxa de produção de metano varia também em função da temperatura. Entre 30-40°C e entre 50-55°C a taxa de produção do gás é maior que em temperaturas mais baixas. Esse é um dos motivos principais pelos quais os tratamentos anaeróbios com produção de metano são mais utilizados em regiões tropicais (DEMIREL; YENIGUN; ONAY, 2005).

Figura 4 - Crescimento relativo de microrganismos metanogênicos psicrófilos, mesófilos e termófilos em função da temperatura.



Fonte: Adaptado de Chernicharo (2007)

A temperatura também afeta o ambiente extracelular, como por exemplo no grau de dissociação de muitos compostos ou as velocidades de reação. Em temperaturas baixas, a eficiência dos reatores diminui por causa da alta acumulação de sólidos suspensos na camada de lodo (CHONG et al., 2012).

A digestão anaeróbia é considerada muito sensível às mudanças de temperatura. Mesmo que as altas temperaturas sejam mais benéficas para o crescimento microbiano e a produção de gás, é mais importante manter a temperatura constante no processo, pois mudanças de temperatura podem causar quebra da estabilidade dos consórcios microbianos e decorrentes falhas no processo de digestão (MAO et al., 2015).

2.2.6.3 Nutrientes

Os microrganismos, envolvidos no processo de digestão anaeróbia, requerem macro e micronutrientes. Dentre os macronutrientes, nitrogênio, fósforo e enxofre são considerados essenciais para a metanogênese, geralmente na proporção DQO:N:P de 250:50:1 (AMMARY, 2004). Segundo Foresti et al. (1999), a concentração de enxofre deve estar na mesma magnitude do fósforo. Além desses elementos, vários micronutrientes (ferro, zinco, cobre, manganês, molibdato, alumínio e cobalto) têm se demostrado necessários para o processo (SINGH; KUMAR; OJHA, 1999). Embora esses elementos sejam necessários em concentrações extremamente baixas, a falta deles tem efeitos adversos sobre o crescimento e desempenho do consórcio (CHERNICHARO, 2007).

2.2.6.4 TDH e COV

O TDH é o tempo em que o substrato fica dentro do reator em contato com a biomassa e é calculado pela equação 19.

$$\mathrm{TDH} = \frac{\mathrm{V_r}}{\mathrm{Q}} \qquad \text{Eq. 19}$$

Onde V_r é volume útil do reator e Q é a vazão de alimentação. Períodos curtos de contato entre o consórcio microbiano e o substrato podem provocar acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) em função de que o tempo se torna insuficiente para promover o ciclo completo da metanogênese (MAO et al., 2015). Por outro lado, períodos muito longos permitirão a total degradação da matéria orgânica, porém, podem afetar a quantidade de biomassa por falta de nutrientes. Além disso, períodos longos podem acarretar a não utilização da capacidade máxima do reator, ocasionando prejuízos econômicos. O TDH é um dos parâmetros mais importantes no desenho dos reatores, uma vez que é determinante para a economia do processo (DUGBA; ZHANG, 1999).

A COV é a quantidade de matéria orgânica que é adicionada ao reator por um período determinado. A unidade comumente usada é $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$. A COV é calculada a partir do TDH através da equação 20.

$$COV = \frac{C_{af}}{TDH}\left(\frac{kgDQO}{m^3.d}\right) \qquad \text{Eq. 20}$$

Onde C_{af} é a concentração de matéria orgânica no afluente ($kgDQO.m^{-3}$). A adição de grandes volumes de matéria orgânica pode provocar mudanças no ambiente do reator e inibir a atividade microbiana, durante os primeiros estágios do processo de digestão (MAO et al., 2015). A inibição ocorre quando se introduzem altas COVs, as quais promovem aumento das taxas de reação de hidrólise e de acidogênese, as quais aumentam a concentração de AGV no meio. A acumulação de ácidos prejudica a metanogênese e pode conduzir ao colapso do sistema.

A Eq. 20 mostra que a COV e o TDH são inversamente proporcionais, ou seja, um aumento do TDH diminuirá a COV e vice-versa. Além disso, a concentração de DQO do afluente é diretamente proporcional a COV. Encontrar os TDHs e as COVs adequados é a melhor estratégia para manter tratamento estável e rendimento máximo na produção de biogás (MAO et al., 2015).

2.3 Tratamento anaeróbio de efluentes

O tratamento biológico de efluentes está principalmente relacionado à degradação da matéria orgânica, transformando-a em energia para as células, em novas células e produtos. Nos sistemas de tratamento de efluentes, a matéria orgânica é quantificada indiretamente pela DBO ou DQO. A queda desses parâmetros indica que a matéria orgânica está sendo consumida. Para que seja efetivamente removida do sistema, a biomassa e os produtos formados durante o processo têm que ser separados do meio. No caso do tratamento anaeróbio, a maior parte da DBO é transformada em metano. Sua transformação em metano em reatores anaeróbios é altamente desejada, não só por ser fonte de energia, mas também por representar remoção efetiva de matéria orgânica. Algumas das vantagens e desvantagens de usar tratamentos anaeróbios são mostradas na Tabela 2.

Tabela 2. Vantagens e desvatagens do tratamento anaeróbio de efluentes segundo Seguezzo et al. (1998), Chernicharo (2007), Andalib et al. (2014), Moharram, Abdelhalim e Rozaik (2016) e Pang et al., (2017).

Vantagens	**Desvantagens**
• alta eficiência de remoção de matéria orgânica, mesmo com altas cargas orgânicas volumétricas; • simplicidade da estrutura e construção dos reatores; • a flexibilidade de trabalhar em grande ou pequena escala; • requer pouco espaço; • apresenta pouco consumo de energia, já que não necessita de aquecimento e há geração de energia durante o processo; • a produção de lodo é baixa; • a demanda de nutrientes é baixa; • não há necessidade da adição de reagentes químicos.	• baixa remoção de nutrientes e patógenos; • longo período de partida, devido à baixa velocidade de crescimento dos microrganismos; • possíveis odores desagradáveis; • necessidade da realização de pós-tratamentos.

O uso da digestão anaeróbia no tratamento de efluentes, segundo Abbasi, Tauseef e Abbasi (2011), teve início no final do século XIX na França com a chamada Fossa Automática Mouras. Posteriormente, outros sistemas de fossas começaram a ser usados na Europa. No começo do século XX, foram desenvolvidos vários tipos de reatores mais eficientes que ajudaram no entendimento do tratamento de efluentes utilizando esse processo. No entanto, só a partir dos anos 50 foi compreendida a importância de manter concentrações elevadas de microrganismos dentro dos reatores e a importância de propiciar o contato adequado entre a biomassa e o meio. Antes dessa compreensão, foram utilizados

TDHs muitos grandes, permitindo que as populações microbianas ficassem por mais tempo dentro dos reatores.

O desenvolvimento de técnicas de retenção de biomassa (imobilização em suportes, auto-imobilização e recirculação de biomassa) permitiu o desenvolvimento dos chamados reatores de alta taxa (LETTINGA, 1995). Isto permitiu a retenção de grande quantidade de biomassa nos reatores e favoreceu o contato entre a biomassa e o substrato, inclusive com baixos TDHs.

O desenvolvimento do reator de alta taxa com filtro anaeróbio ascendente (atualmente conhecido como reator anaeróbio de leito fixo) no final da década de 60, descrito por Young e McCarty (1969), revolucionou a utilização dos sistemas de tratamento anaeróbio, ampliando as possibilidades da aplicação desse tratamento a diversos tipos de efluentes. A partir desse momento, foram desenvolvidas várias configurações de reatores de alta taxa. Dentre os reatores desenvolvidos entre os anos 60 e 80, descantam-se, além do filtro anaeróbio, o reator anaeróbio de leito expandido/fluidizado (SWITZENBAUN; JEWELL, 1980) e o UASB (LETTINGA et al., 1980).

Nos anos 90, os reatores UASB se consolidaram e essa tecnologia passou a ser aplicada a efluentes sanitários e industriais. Entretanto, dentre as desvantagens desse sistema destacavam-se as baixas velocidades ascensionais e a dificuldade para a granulação do lodo. Para superar os obstáculos, foi desenvolvido o reator de manta expandida de lodo granular, o qual é uma variante do reator UASB. Esse novo tipo de reator de lodo granular apresenta velocidades ascensionais que permitem a expansão do lodo e maximiza o seu contato com o efluente (SEGHEZZO et al., 1998).

2.4 Retenção de biomassa em reatores

A retenção da biomassa permite utilizá-la nos reatores anaeróbios em maiores concentrações e facilita a manutenção de populações microbianas balanceadas (ANDALIB et. al., 2014; PANDEY; SARKAR, 2017). Maiores concentrações podem favorecer a degradação de matéria orgânica, e possibilitam que a degradação da matéria orgânica seja mais rápida; os reatores possam ser alimentados com cargas orgânicas mais altas, podendo serem utilizados reatores menores (ANDALIB et. al., 2012). A imobilização de microrganismos metanogênicos pode promover maior robustez no processo (ROMERO-GUIZA et al., 2016) e é muito útil para a manutenção desses microrganismos que são de crescimento lento (MELIDIS; GEORDIOU; AIVASIDIS, 2003).

A imobilização pode ser realizada através da formação de biofilmes em suportes inertes (PANDEY; SARKAR, 2017), através do aprisionamento de células em matrizes porosas ou através do processo de auto-imobilização/granulação, o qual não necessita de suporte.

2.4.1 Imobilização dos microrganismos através da formação de biofilmes em suportes

A imobilização é a retenção das células em suportes ou carregadores. Esse processo impede o movimento livre das células e a sua eluição junto com a fase móvel ou meio (NICOLELLA; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 2000). Adicionalmente, facilita a separação entre a biomassa microbiana e o efluente, uma vez que está aderida a suportes sólidos que possuem alta velocidade de sedimentação (LIU; SHENG; YU, 2009).

A imobilização de biomassa pode ser realizada através da formação de biofilmes na superfície do suporte. O desenvolvimento dos biofilmes começa quando a superfície é exposta a um ambiente aquoso, no qual os efeitos de absorção promovem a retenção de algumas substâncias químicas, de moléculas orgânicas, de nutrientes e de uma série de microrganismos. Stoodley et al. (2002) descrevem o processo de formação de biofilme em 4 fases. Na primeira, microrganismos, chamados de colonizadores primários, associam-se à superfície do suporte e formam um primeiro filme. Essa fase é de curta duração, apenas alguns minutos, e é considerada reversível (BRYERS, 1988). Na segunda, as células aderem irreversivelmente à superfície, através da produção de materiais poliméricos extracelulares, principalmente polissacarídeos. Na terceira, se forma uma matriz gelatinosa que retém proteínas e outros nutrientes, fazendo com que posteriormente os microrganismos mudem seus processos fisiológicos, em resposta às características desses nichos. Na última, evolui até atingir um estado de equilíbrio, onde os processos de formação e redução do biofilme se equilibram.

O incremento populacional de microrganismos no biofilme, aderido ao suporte, permite que haja o estabelecimento de associações sintróficas, maior cometabolismo e maior transferência de hidrogênio e prótons, o que, com o tempo, estimulará o crescimento de colônias (MONTALVO et al., 2012). Paralelamente, a biomassa imobilizada cria micro-ambientes especiais pela própria interação das espécies e isso permite maior eficiência da atividade microbiológica, alta estabilidade entre as colônias e elevada resistência a impacto provocado por mudanças na carga orgânica, pH ou TDH.

Como mencionado anteriormente, o biofilme é composto por polímeros extracelulares (50 e 90%), que são de fundamental importância à estrutura e funcionalidade

do complexo. Protegem os microrganismos de ações negativas do meio, tais como a presença de surfactantes e metais pesados. Sua forma é influenciada por suas atividades, tais como o crescimento celular e/ou a produção das substâncias poliméricas e por fatores externos, como atrito e outras forças mecânicas (VELUCHAMY; LEWANDOWSKI; BEYENAL, 2008).

Os compostos necessários para o desenvolvimento bacteriano são adsorvidos na superfície do biofilme, sendo em seguida transportados, por difusão, para serem metabolizados pelos microrganismos. A penetração e difusão do substrato dependem da porosidade do biofilme, da concentração de substrato, da taxa de transferência de massa na interface líquido-biofilme e da taxa de reação dos microrganismos (NICOLELLA; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 2000). Dessa forma, a espessura e a densidade dos biofilmes podem afetar a taxa de difusão dos compostos presentes no meio. Em biofilmes muito espessos, o fator limitante do processo é a redução da taxa de transferência de massa (SAFFERMAN; BISHOP, 1996). Portanto, o transporte de massa é geralmente mais rápido em biofilmes mais finos.

A remoção do biofilme pode acontecer pela predação dos microrganismos do biofilme por organismos maiores, tais como protozoários, por cisalhamento e abrasão, causados pela hidrodinâmica do reator, ou por desprendimento de biomassa (BRYERS, 1988; MELIDIS; GEORDIOU; AIVASIDIS, 2003).

Os microrganismos são altamente capazes de se ligar a diversos tipos de superfícies, dependendo da natureza do suporte (ANTONIO-CARMONA et al., 2015). A escolha do material adequado é fundamental para formação do biofilme e retenção da biomassa no interior do reator. As características dos suportes a serem consideradas são rugosidade, afinidade, estabilidade, permeabilidade, forma, resistência mecânica, porosidade, hidrofobicidade e irregularidade superficial (HUYSMAN et al., 1983; GARCIA-CALDERON et al., 1998; NOMURA et al., 2008; GONG et al., 2011; LIU et al., 2017). Além das características dos suportes, o mecanismo da imobilização varia com os tipos de microrganismos, concentração de nutrientes, atividade metabólica e outras características físicas dos meios. Portanto, os fatores que afetam a adesão podem ser químicos, físicos e biológicos (NOMURA et al., 2008; BASILE et al., 2010; NGUYEN et al., 2016).

Adu-Gyamfi, Ravella e Hobbs (2012) avaliaram a influência do suporte de imobilização, a COV, as razões alimentação/inóculo e C:N, a concentração de micronutrientes e agitação, na digestão anaeróbia de um substrato sintético (amido, glicose, celulose e xilose como fonte de carbono) em escala de laboratório. Os resultados mostraram que o fator preponderante na produção de metano (>60%) foi o suporte.

A imobilização em suportes porosos e com maiores área de contato evitam o risco de desprendimento da biomassa e, ao mesmo tempo, permitem maior retenção (MELIDIS; GEORDIOU; AIVASIDIS, 2003). De forma similar, Heijnen et al. (1992) consideraram que a rugosidade é uma característica muito importante para o desenvolvimento do biofilme, o qual é protegido do atrito, através das cavidades superficiais.

A influência de imobilização do consórcio microbiano na eficiência da digestão anaeróbia pode ser negativa ou positiva. Gong et al. (2011) testaram 4 reatores para a digestão anaeróbia de esterco bovino, 3 com biomassa imobilizada em suportes (fibra de carvão ativado, fibra de álcool polivinílico e fibra de vidro) e o controle com biomassa livre. Os resultados, quando comparados com os do controle, mostraram que a produção de metano aumentou com a utilização da fibra de carvão, não sofreu mudanças significativas com fibra de álcool poli vinílico e diminuiu com fibra de vidro.

As forças eletrostáticas e as interações hidrofóbicas são vitais durante a fase inicial da formação dos biofilmes (AHAMMAD et al., 2013). As comunidades microbianas envolvidas no processo de digestão anaeróbia são comumente hidrofóbicas e carregadas negativamente. Nomura et al. (2008) avaliaram a imobilização de microrganismos metanogênicos acetoclásticos. Os microrganismos metanogênicos testados foram *Methanosaeta concilii* (hidrofóbico sem carga) e *Methanosaeta barkeri* (hidrofóbico e carregado negativamente). Os suportes testados foram carvão de bambu, hidrofóbico e carregado negativamente, e alumina, hidrofílica e carregada positivamente. As células foram atraídas aos dois suportes por forças eletrostáticas, porém a imobilização ocorreu apenas no suporte hidrofóbico. Esses resultados estão em conformidade com os reportados por Muri et al. (2018), que compararam o desempenho de reatores usando como suportes Mutag BioChip^{TM} (hidrofóbico) e carvão ativado (hidrofílico).

Os suportes porosos e fibrosos são muito utilizados, em consequência de suas grandes áreas superficiais específicas.

Yang et al. (2004) compararam a eficiência de filtro de carbono, lã mineral, espuma de poliuretano e bucha vegetal (suportes porosos) em reatores de digestão anaeróbia alimentados com efluente sintético (acetato de sódio como fonte de carbono). Usaram um reator com biomassa livre como controle. A população de microrganismos aderida a cada suporte foi diferente. Na bucha e na espuma, as populações continham maior porcentagem de *M. barkeri*, responsável pela transformação de acetato em metano. Os quatro reatores removeram DQO em quantidades semelhantes, entretanto os reatores com bucha e espuma

produziram maior quantidade metano. Todos os reatores mostraram melhor desempenho em relação ao controle.

Liu et al. (2017) avaliaram o efeito de polipropileno, poliester, poliamida e poliuretano (suportes fibrosos) para a digestão anaeróbia de palha de milho. A capacidade de adesão de biomassa dos suportes influenciou a eficiência dos reatores na produção de metano e degradação de matéria orgânica (DQO, SV, celulose e hemicelulose). O biofilme aderido ao polipropileno se desenvolveu mais rapidamente que nos outros suportes. Adicionalmente, o polipropileno promoveu maior remoção de matéria orgânica e produção de metano.

A espuma de poliuretano é um dos suportes mais utilizados na imobilização do lodo anaeróbio. É um material reutilizável e de fácil manuseio, alta resistência ao impacto e ao ataque de solventes orgânicos, além de apresentar uma boa relação custo-benefício (ANTONIO-CARMONA et al., 2015). A quantidade de biomassa que a espuma pode imobilizar depende da sua porosidade e irregularidade superficial. Quanto maior a área disponível, maior a capacidade de retenção de biomassa e melhor desempenho dos reatores (FIA et al., 2010).

Garcia M. et al. (2008) compararam a eficiência da espuma de poliuretano, carvão vegetal, pedra-pomes e polietileno de baixa densidade, em reatores anaeróbios em bateladas sequenciais, com agitação mecânica. Os resultados mostraram que o reator com biomassa imobilizada na espuma de poliuretano apresentou os melhores resultados em termos de desempenho, de parâmetros cinéticos e de análise microbiana. Enquanto que o polietileno foi o melhor suporte para a aderência de microrganismos metanogênicos.

Os zeólitos são comumente utilizados na imobilização. São porosos, adsorvem facilmente moléculas e permitem o intercâmbio de cátions sem mudanças significativas na sua estrutura (MONTALVO et al., 2012).

Outros suportes, principalmente materiais de baixa densidade, também têm sido estudados. Kerčmar e Pintar (2017) compararam as características da biomassa imobilizada em 4 suportes diferentes (polietileno, poliuretano, carvão ativado e argila expandida). Os suportes influenciaram a quantidade e a qualidade da comunidade microbiana imobilizada. O polietileno e a argila expandida proporcionaram melhor imobilização da biomassa.

Borja et al. (1993) compararam a influência de três suportes (zepiolito, saponito e bentonito) na cinética de tratamento de efluentes de uma indústria de queijos. O sistema de biomassa imobilizada em zepiolito teve maior atividade metanogênica que os outros. Isto foi atribuído a sua maior área superficial, rugosidade elevada e superfície carregada

negativamente. Além, nesse suporte, a transferência de íons de magnésio da superfície para o biofilme foi importante para a metanogênese.

Habouzit et al. (2011) estudaram a influência das propriedades de diferentes suportes (polietileno, polipropileno, PVC-policloreto de vinila, acrilonitrila-butadieno-estireno, policarbonato, vidro borossilicato e aço inoxidável) na adesão de *Archeae* em reatores anelares rotativos. A quantidade de biomassa aderida aos suportes foi diferente para cada material. Notaram que a rugosidade não teve um papel tão importante quanto a energia de superfície (similar à tensão superficial) na adesão dos microrganismos. Valores de energia da superfície baixos permitiram maior adesão do consórcio anaeróbio. O propileno proporcionou maior adesão entre os suportes testados, ao contrário do PVC. Porém, o biofilme aderido ao PVC apresentou maior porcentagem de microrganismos *Archeae*, responsáveis pela metanogênese.

Nguyen et al. (2016) constararam a formação de biofilme da uma *Archeae* altamente hidrofílica em 6 suportes diferentes (polietileno, polipropileno, PVC, fluoreto de polivinilideno, tereftalato de polietileno, politetrafluoroetileno). A formação do biofilme foi influenciada pelas características dos suportes, tais como, hidrofobicidade, energia de superfície e potencial zeta. Os autores sugeriram que, além das características dos suportes, as interações poliméricas células/suporte poderiam ser um fator determinante para o desenvolvimento do biofilme. Observaram que houve maior formação de biofilme no PVC, suporte menos hidrofóbico, com a menor energia de superfície e com a superfície mais polarizada. As interações poliméricas junto à alta polarização do suporte promoveram adesão irreversível e o estabelecimento do biofilme.

Basile et al. (2012) também destacaram a influência das características da superfície na adesão de biomassa. Compararam suportes de hidrogel na produção termofílica de hidrogênio. Foi obsevado que a aderência foi influenciada principalmente pelo potencial zeta. Os suportes com potencial zeta positivo (catiônicos) promoveram maior adesão e, consequentemente, maior consumo de substrato.

Outros trabalhos relataram a utilização de outros suportes tais como sílica, areia, coque, vidro, polietileno, escória de alto-forno, carvão vegetal, brita, resina, polímeros sintéticos, entre outros (WU et al., 2006; BASILE et al., 2010; FIA et al., 2010; LIN et al., 2011; WU; CHU; SHEN, 2012; WATANABE et al., 2013). Esses trabalhos destacam principalmente que a imobilização da biomassa promove a sua retenção e, consequentemente, melhora o desempenho dos reatores.

2.5 Reatores com biomassa imobilizada em suportes

Segundo Bryers e Characklis (1990) as vantagens da utilização de reatores com biomassa imobilizada são:

- aumento da concentração de biomassa dentro do reator e, consequentemente, maiores taxas de conversão de substratos;
- operação estável do reator, independentemente da velocidade de crescimento dos microrganismos;
- redução do volume dos reatores;
- maior resistência a choques provocados pelas mudanças da COV, TDH, pH, entre outros;
- maior facilidade na separação da biomassa do meio.

A eficiência dos reatores está diretamente relacionada com os fluxos de massa entre as fases líquidas e sólidas, que são limitantes no processo de conversão e podem causar considerável decréscimo de velocidade global das reações (ARAUJO; ZAIAT, 2006).

Os principais reatores que usam biomassa imobilizada para o tratamento de efluentes são os de leito fixo e os de leito fluidizado. Os reatores de leito fixo são caraterizados pela presença de biomasa imobilizada em suporte fixo ou estacionário (CHERNICHARO, 2007; LIER; MAHMOUD; ZEEMAN, 2008). Os suportes atuam como protecção física contra a lavagem dos reatores e promovem maior retenção de biomassa. Esses reatores são normalmente operados com fluxo vertical ascendente, mas também podem ser operados com fluxo descendente ou horizontal (ex. reatores pistonados). Além da biomassa imobilizada, há a presença de flocos de lodo suspensos nos espaços entre os suportes. Esses flocos apresentam alta capacidade de sedimentação. A principal desvantagem desse tipo de reator é a acumulação de biomassa no fundo, que pode ocasionar entupimento ou perda de homogeneidade do meio. Entretanto, o reator de leito fixo ainda é uma opção factível para efluentes onde predomina matéria orgânica solúvel.

2.5.1 RALF

No reator biológico de leito fluidizado, a biomassa cresce aderida a algum material suporte que é fluidizado através da passagem de um gás ou líquido no reator. Esse fluido deve ter velocidade superficial suficiente para manter as partículas suspensas, as quais devem se comportar como fluido (SARAVANAN; SREEKRISHNAN, 2006; BELLO; RAMAN; PURUSHOTHAMAN, 2017). A fluidização é atingida quando as forças de

arraste, de gravitação e de empuxo são igualadas. A força de arraste depende da velocidade do fluido que atravesa o reator. As forças de gravitação e empuxo dependem das características físicas das partículas sólidas e das características do meio reacional. As velocidades ascensionais menores que a velocidade mínima de fluidização podem ocasionar limitações na transferência de massa, enquanto que as altas podem causar lavagem da biomassa imobilizada nos suportes, prejudicando o desempenho do reator (JAAFARI et al., 2014).

Os RALFs são comumente utilizados em aplicações químicas e biotecnológicas (SI; ZHOU; GUO, 2011). Têm sido amplamente usados no tratamento biológico de efluentes, tanto em processos aeróbios como anaeróbios, e são altamente eficientes na remoção de matéria orgânica (ZOU et al., 2016). A tecnologia está bem estabelecida na indústria, mas ainda há estudos em escala de laboratório que tentam melhorar o processo. Esses usam diferentes materiais ou desenhos e/ou integram outras tecnologias no processo (BELLO; RAMAN; PURUSHOTHAMAN, 2017).

A alta eficiência deste tipo de reatores é consequência da grande concentração de biomassa imobilizada em suportes no seu interior e do excelente contato criado entre o substrato e a biomassa pela fluidifização. Isto maximiza o contato entre as partículas sólidas e os componentes do meio (HEIJNEN et al., 1989; NELSON; NAKHLA; ZHU, 2017). A fluidização favorece, também, a manutenção constante da temperatura e a taxa de transferência de massa (TISA; RAMAN; DAUD, 2014). Porém, por causa das altas velocidades ascensionais necessárias para manter a fluidização, as partículas suspensas, presentes no meio, não se acumulam no reator e a retenção de sólidos é baixa, prejudicando a degradação dos sólidos suspensos (HEIJNEN et al., 1989). Por isso, o tratamento de efluentes em reatores de leito fluidizado é melhor quando a carga orgânica é predominantemente solúvel.

Os RALFs apresentam algumas desvatangens, como a difícil manutenção da espessura dos biofilmes, o alto consumo de energia para a recirculação e a difícil obtenção de fluidização uniforme em reatores de escala real (HEIJNEN et al., 1989). Os aspectos hidrodinâmicos da fluidização e o próprio processo de tratamento mudam a espessura do biofilme aderido ao suporte. Isso afeta as suas características, pois as partículas se tornam maiores, modificando sua densidade e forma (ESCUDIÉ et al., 2011). Dessa forma, os parâmetros hidrodinâmicos têm que ser adaptados para manter a expansão da camada e evitar a lavagem dos suportes e da biomassa.

As variáveis envolvidas no estudo do desempenho de RALFs incluem principalmente a influência do TDH, a COV, a expansão do leito e os suportes de imobilização. De forma geral, os estudos mostraram que com TDHs mais altos e com COVs menores a eficiência do tratamento é maior, já que há maior tempo de contato entre a biomassa e o substrato. Porém, a diminuição da carga de alimentação pode ter impacto negativo na produção de metano (FERNÁNDEZ et al., 2008; SHIN et al. 2011).

Fernández et al. (2008) avaliaram os efeitos da COV, do nível de fluidização e do tamanho do suporte em dois RALFs no tratamento efluentes com alta carga orgânica gerados em uma usina de cana-de-açúcar. Esse trabalho mostrou que o aumento da COV, sem diminuir o TDH, favoreceu a remoção de matéria orgânica, pois promoveu um aumento do gradiente de concentração entre o líquido e o biofilme, favorecendo a transferência de massa. Os dois reatores tinham zeólito como material suporte, o primeiro com tamanhos entre 0,2 e 0,5 mm e o segundo entre 0,5 e 0,8 mm. Não encontraram diferença significativa entre o desempenho desses reatores, em função do tamanho das partículas dos suportes. Foi observado que o aumento da COV provocou um incremento na remoção de DQO que foi de 60 para 80%.

Garcia-Morales; Romero e Sales (2003) reportaram que os RALFs são influenciados pela COV e pela expansão do leito. Reatores operados com COVs maiores proporcionaram a formação de maior quantidade de biomassa aderida dada pela disponibilidade de substrato no meio. Observaram que a maior expansão do leito permite incremento da biomassa devido à diminuição das limitações da transferência de massa e que a biomassa imobilizada aumenta ao longo do período de operação dos reatores.

Sen e Demirer (2003) reportaram remoção máxima de 82% de DQO em um RALF operado com COV entre 3 e 5 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ e TDH de 1 dia, no tratamento de efluentes de uma indústria têxtil de algodão na presença de glicose. Por outro lado, Sowmeyan e Swaminathan (2008) conseguiram remover entre 80 e 90% de DQO em um RALF com fluxo invertido alimentado com substrato sintético (glicose como fonte de carbono) e operado com COV de 35 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$.

Andalib et al. (2012) usaram reatores de leito fluidizado com biomassa imobilizada em zeolito para o tratamento de fração líquida de vinhaça, com remoção de DQO e DBO de 88% e 97% respectivamente. A produção de metano foi de 15,8 L. $Lreator^{-1}.d^{-1}$ com o reator operado com TDH de 3,5 dias e COV de 30 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$. Andalib et al. (2014) usaram o mesmo reator para a digestão anaeróbia de lodo primário de uma estação de tratamento de

esgoto e constaram que a eficiência de remoção de DQO e a produção de metano foram afetadas pelo aumento da COV.

Jaafari et al. (2014) reportaram que o aumento da COV e o aumento da velocidade ascensional tiveram impacto negativo na remoção de DQO em um RALF, no tratamento de efluentes de uma indústria de groselha. As análises do biofilme mostraram que: (i) quando a COV aumentou, a espessura do biofilme formado nos suportes diminuiu, devido ao incremento da concentração do substrato; (ii) a concentração de biomassa variou ao longo do reator, sendo que há maiores concentrações na parte inferior da coluna; e (iii) a espessura dos biofilmes aumenta da parte inferior até a parte superior mostrando estratificação de biopartículas.

Os RALFs também têm sido usados em processos de tratamento de efluentes com reatores em série mostrando resultados promissores. Chen et al. (2019) avaliaram o tratamento de efluentes domésticos em um sistema composto por dois RALFs em série: um RALF simples e um RALF de membrana. Na fase de adaptação, o primeiro reator removeu cerca de 95% de DQO de um efluente sintético (leite sem gordura, amido e acetato de sódio como fonte de carbono). Após adaptação, na fase de operação, o sistema foi alimentado com efluentes domésticos. Ao final do tratamento a remoção de DQO foi de 90%, entretanto a remoção do primeiro reator foi de apenas 60%.

Andalib, Nakhla e Zhu (2012) avaliaram o desempenho na remoção de DQO e nutrientes de um sistema composto por três reatores de leito fluidizado em série (anaeróbio, anóxico e aeróbio) no tratamento de efluente sintético (ácido acético como fonte de carbono). Ao longo do experimento, o reator anaeróbio removeu cerca de 96% da DQO total. A remoção de nutrientes aconteceu apenas nos reatores anóxico e aeróbio, mostrando a vantagem da combinação desses reatores para o tratamento de efluentes.

A remoção de matéria orgânica em reatores anaeróbios e a de nutrientes em reatores aeróbios também foi demostrada por Jafari et al. (2013), no tratamento de efluentes de uma indústria de groselha. Os resultados mostraram remoção de DQO de até 95% para COVs de 9,4 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ no reator anaeróbio, enquanto que no reator aeróbio, foi observada a remoção de principalmente cor e nutrientes.

Os RALFs também apresentam potencial para remoção de toxicidade de efluentes, apesar de terem sido encontrados poucos trabalhos relacionados com o tema na literatura consultada.

Amorim, Sader e Silva (2015) removeram até 99% de fenol com COV de 0,48 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$. Entretanto, concentrações altas de fenol provocaram diminuição de sua

remoção, sendo isto explicado pelo efeito inibitório do acúmulo de fenol no reator, o qual afetou a atividade dos microrganismos. Sancinetti et al. (2012) também reportaram a remoção de DQO (85%) e de fenol (95%) em três RALFs preenchidos com poliestireno, polietileno e PVC.

Braga et al. (2015) e Motteram et al. (2014) obtiveram boa remoção de a matéria orgânica de efluentes contendo surfactantes tóxicos não iônicos em RALFs. Feng et al. (2015) e Zhang et al. (2008) também reportaram que reatores RALF obtiveram remoção até 90% de DQO no tratamento de efluentes da indústria de ácido tereftálico, usando esse mesmo tipo de reator.

Em outro trabalho, Andrade et al. (2017), mostraram que a toxicidade aguda de um efluente de lavanderia, cuja toxicidade foi de 100% para *Chironomus xanthus*, foi reduzida após tratamento em um RALF para uma faixa de 20 a 30%.

2.6 Autoimobilização ou granulação

Os grânulos são comunidades ou consórcios densos e empacotados com diferentes tipos de microrganismos. A granulação permite que os microrganismos se agrupem, tenham maior área de contato com meio, aumentem a sedimentação, além de facilitar a separação entre a biomassa e o efluente (LIU; TAY, 2004). A principal vantagem da granulação em relação à imobilização com suportes é prescindir dos últimos, o que possibilita maior aproveitamento do volume do reator.

De forma geral, Liu et al. (2003) descrevem o processo de granulação em 4 fases:

- A primeira envolve forças físicas que permitem o contato entre as células ou a adesão das células a um núcleo. A atração entre as células e o núcleo engloba forças hidrodinâmicas, difusão, gravidade, termodinâmica e a própria movimentação celular.
- Na segunda, as forças físicas, químicas e bioquímicas de atração permitem que os contatos entre as células se mantenham estáveis. As interações físicas e químicas incluem forças de Van der Waals, interações dipolo-dipolo, pontes de hidrogênio, energia livre de superfície e hidrofobicidade. Assim como na imobilização em suportes, a hidrofobicidade cumpre um papel importante na manutenção da união celular. As forças bioquímicas incluem a desidratação da superfície celular, a fusão de membranas celulares e os mecanismos de sinais na comunidade bacteriana.

- Na terceira, as forças microbianas permitem a maturação do agregado celular. Nessa fase há produção de polímeros extracelulares, crescimento celular em *cluster* (células agregadas) e mudanças metabólicas e genéticas em resposta ao ambiente. Esses processos permitem a interação entre as células dentro de uma estrutura organizada.
- Na quarta, o estado estacionário é atingido. A estrutura tridimensional é moldada por forças hidrodinâmicas. O tamanho e forma dos grânulos são determinados pelas espécies celulares que compõem os agregados, e suas interações, pelo cisalhamento causado pelas forças hidrodinâmicas e pela carga orgânica.

Geralmente, a granulação ocorre durante a fase de partida dos reatores. Para isso é importante selecionar um TDH adequado e a alimentação deve conter alto teor de carboidratos, para sustentar aos microrganismos acidogênicos e facilitar a formação de polímeros extracelulares. Quanto mais prontamente os acidogênicos absorverem e metabolizarem o substrato, mais cedo os metanogênicos metabolizarão os produtos formados na etapa anterior. A inoculação de sementes de lodo pode agilizar a granulação. A adição de pequenas quantidades de grânulos estimula o processo, devido ao fornecimento de microrganismos responsáveis pela granulação (LIU et al., 2002).

A granulação é favorecida pelas altas velocidades ascencionais e por TDHs curtos (ALPHENAAR; VISSER; LETTINGA, 1993). A ação combinada de ambas as variáveis permite a remoção de microrganismos que não apresentam potencial granulador e selecionam os capazes (LIU; TAY, 2004).

A degradação da matéria orgânica pelos grânulos envolve interações intercelulares e associações sintróficas. De acordo com Macleod, Guiot e Costerton (1990), as associações sintróficas ocorrem dentro dos grânulos, porque todos os microrganismos responsáveis pela digestão anaeróbia coexistem nessas estruturas em diversas camadas. Os microrganismos metanogênicos se encontram nas camadas mais internas. Os acidogênicos, produtores de H_2, encontram-se nas camadas do meio e as bactérias hidrolíticas, nas mais externas. Os grânulos possuem cavidades, poros e canais que facilitam o transporte de gases, líquidos, substratos e/ou metabolitos entre as diversas camadas (LIM; KIM, 2014; JIANG et al., 2016).

A manutenção da atividade microbiana é importante na formação e estabilização dos grânulos (LIU; TAY, 2004). Mudanças na atividade de um grupo de microrganismos acabam afetando a atividade dos outros grupos e, consequentemente, a estabilidade da população

pode ser quebrada, pois são governadas por associações sintróficas. A manutenção da atividade é beneficiada pelo suprimento adequado de nutrientes. Por isso, as fases de partida dos reatores são beneficiadas quando os reatores são supridos com complementos nutricionais.

Os grânulos de lodo são mais comumente formados em reatores UASB, porém, existem outros tipos de reatores de alta taxa que usam essa tecnologia, como por exemplo, os reatores perfeitamente agitados anaeróbios, os reatores anaeróbios com circulação interna, os reatores anaeróbios de bateladas sequenciais e os reatores anaeróbios de leito granular expandido. (CHERNICHARO, 2007). Entretanto, neste trabalho, a discussão será limitada aos reatores de leito granular expandido, conhecidos como reatores EGSB, do inglês *Expanded granular sludge bed reactor*.

2.6.1 Reatores EGSB

Os reatores EGSB são classificados como reatores de alta taxa derivados da família dos reatores UASB. Usam consórcios microbianos imobilizados em grânulos e apresentam recirculação com velocidades superficiais suficientes para causar a expansão do lodo (SEGUEZZO et al.; 1998). Devido à alta sedimentabilidade dos grânulos, é possível aplicar altas velocidades ascensionais no reator sem removê-los (LIER; MAHMOUD; ZEEMAN, 2008). A expansão permite maior mistura e melhor contato entre a biomassa e o substrato (CHERNICHARO, 2007).

Os reatores EGSB são usados principalmente para tratramento de efluentes com matéria orgânica solúvel, pois as altas velocidades superficiais não permitem a degradação do material particulado (CHERNICHARO, 2007). Ademais, a presença excessiva de sólidos suspensos na alimentação do reator pode ser prejudicial para a manutenção das características e da estabilidade dos grânulos (BASITERE et al., 2016).

As características dos RALF e dos reatores ESGB são muito similares. A principal diferença é que o primeiro usa suportes para imobilização dos microrganismos, enquanto que o segundo utiliza lodo granulado. Isso, combinado aos parâmetros operacionais, pode causar mudanças nas comunidades microbianas dos reatores, inclusive usando os mesmos inóculos.

Bialek et al. (2011) estudaram a comunidade metanogênica em um EGSB e um RALF inverso, inoculados com o mesmo lodo, e encontraram que os microrganismos metanogênicos predominantes em cada reator eram diferentes. A família Methanosaetaceae

era a dominante no EGSB, enquanto a da família Methanomicrobiales era a dominante no RALF.

Geralmente, os parâmetros estudados nos reatores EGSB são os mesmos estudados nos RALFs, como a influência do TDH e da COV. Bialek, Cysneiros e O'Flaherty (2013) reportaram que um reator EGSB operado à 10ºC, com efluentes de indústria de produtos lácteos desnatados, promoveu remoção de mais de 85% da DQO com COV de 2 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ e TDH de 12 horas. Os experimentos mostraram que a diminuição de TDH não impactou na remoção de DQO. Por outro lado, o aumento da COV a TDH constante impactou negativamente a degradação de matéria orgânica.

Ghorbanian et al. (2014) estudaram o impacto de mundanças de TDH com COV fixa em um reator EGSB alimentado com efluentes de destilaria em escala piloto. Observaram remoção de DQO de 60% com TDH de 1 dia e de 98% com TDH de 5,9 dias. A eficiência da remoção de matéria orgânica e produção de metano aumentaram com o aumento do TDH. Maior eficiência foi encontrada quando o sistema foi alimentado com alta carga orgânica e alto TDH. Os TDHs baixos não permitiram que as proteínas e as gorduras do efluente fossem eficientemente difundidas nos grânulos para serem digeridas, ou seja, os TDHs baixos causaram limitações no processo de difusão e transferência de massa.

Cruz-Salomón et al. (2018) avaliaram o efeito do TDH no tratamento de efluentes do processamento do café em um reator EGSB. Foram testados TDHs entre 3 e 9 dias. Com TDHs entre 3 e 4 dias, 5 e 6 dias e 7 e 9 dias, foram observadas remoções de DQO entorno de 94, 97 e 98%, respectivamente. Embora a eficiência seja alta para todos os TDHs, apenas o tratamento com TDHs maiores a 7 dias gerou efluentes com as características adequadas para serem despejados em corpos hídricos segundo as normas ambientais do local.

Zhang et al. (2017) estudaram a eficiência do reator EGSB alimentado com efluentes da indústria de amido. O aumento da velocidade ascensional até 2,5 $m.h^{-1}$ produziu efeito benéfico na remoção de matéria orgânica, mas velocidades maiores tiveram o efeito contrário. A remoção de DQO com COVs entre 6 e 20 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$ superou os 90%, enquanto que com COV de 30 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$ foi de cerca de 80%.

Dastyar, Amani e Elyasi (2015) mostraram que o aumento da concentração da DQO do afluente e a diminuição do TDH diminuiram significativamente a eficiência do tratamento de lixiviados de compostagem em um reator EGSB híbrido. A remoção de DQO e o teor de sólidos suspensos foi de 85 e 65%, respectivamente, quando operado com COV de até 4,17 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$.

Li et al. (2014) trataram, em um reator EGSB em escala piloto, efluentes gerados por uma indústria ligada a medicina tradicional chinesa. A remoção de DQO foi de 90% com COVs entre 4 e 10 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$. O aumento da COV não teve impacto negativo na redução da matéria orgânica. Quando o TDH foi reduzido de 9 para 6 horas, a remoção de DQO caiu abruptamente(de 90% a 78%), devido ao acúmulo de compostos aromáticos provenientes do efluente, que provocaram a inibição da atividade microbiana. O tamanho dos grânulos também foi afetado. O incremento da COV e diminuição do TDH tiveram impacto significativo: com aumento da COV sem mudar o TDH os grânulos ficaram maiores, enquanto que com a diminuição do TDH os grânulos diminuiram.

O tratamento de efluentes de uma indústria de refrigerantes em um reator EGSB proporcionou remoção de até 90% da DQO (SHELDON; ERDOGAN, 2016). O processo apresentou uma fase de estresse devido a alta carga de H_3PO_4, com remoção de DQO de apenas 45%. Em função desse resultados, os microrganismos sofreram um processo de readaptação. Após esse processo, a remoção de DQO aumentou para 72% com COV de 11 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$.

O tratamento de efluentes de um matadouro de aves em um reator EGSB apresentou baixo desempenho (BASITERE et al., 2016). A remoção de DQO foi de 55% com COV de 1 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$ e TDH de 3 dias. Os altos teores de gordura e sólidos supensos, presentes no efluente, causaram a lavagem da biomassa. Consequentemente, houve uma baixa remoção de matéria orgânica, apontando para a necessidade de uma etapa de pré-tratamento.

Xing et al. (2009) estudaram a influência da temperatura no tratamento anaeróbio de cerveja diluída em um reator EGSB operado à 15ºC e à 20ºC. A remoção da matéria orgânica subiu de 73% para 85% nas temperaturas de 15ºC e 20ºC, respectivamente.

Os reatores EGSB também têm mostrado resultados positivos na remoção ou degradação de substâncias tóxicas. Scully, Collins e O'Flaherty (2006) reportaram que um reator EGSB operado com temperaturas entre 10°C e 15°C removeu efetivamente fenol (99%). A produção de metano foi de 0,3 L por grama de DQO removida. Porém, a acumulação de fenol no meio se mostrou tóxica e inibiu a atividade dos microrganismos do consórcio anaeróbio.

Delforno et al. (2012), Delforno et al. (2014), Centurion et al. (2018) e Granatto et al. (2019) mostraram que reatores EGSB foram capazes de remover sulfonato de alquilbenzeno de cadeia linear (surfactante iônico). A remoções máximas atingidos de DQO e de surfactante foram de até 95% e 77%, respectivamente. A análise da comunidade

microbiana desses reatores mostrou que a adição do surfactante estimulou o crescimento de microrganismos capazes da clivagem do composto em condições anaeróbias.

Lafita, Penya-Roja e Gabaldón (2015) e Ferrero et al. (2018) estudaram a remoção de etoxipropanol e metoxipropanol em reatores EGSB. Os sistemas necessitaram de longos periodos de adaptação, devido à falta de enzimas para clivar os compostos. Entretanto, o teor de enzimas aumentou ao longo da operação. Após o periodo de adaptação, a remoção de DQO foi superior a 80%. Rendimentos similares foram obtidos por Li et al. (2019) no tratamento de efluentes da indústria de cefalosparina misturados com esgoto municipal, após longos periodos de adaptação.

Os reatores EGSB e RALF têm se mostrado eficientes no tratamento de diversos efluentes com diferentes condições de operação. Neste trabalho, foi estudado o desempenho desses reatores em escala de bancada no tratamento da fração líquida do estrume bovino separada apenas por peneiramento.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar o tratamento anaeróbio da fração líquida obtida a partir de estrume bovino e comparar o desempenho de um reator EGSB e dois RALFs na remoção de carga orgânica dos efluentes e produção de metano.

3.2 Específicos:

- Escolher suportes adequados para a imobilização de lodo anaeróbio previamente coletado;
- Construir reatores EGSB e RALF;
- Caracterizar física, química e toxicológica dos efluentes brutos;
- Monitorar do comportamento e do desempenho dos reatores ao longo da operação;
- Avaliar do tratamento anaeróbio da fração líquida do estrume bovino separada por peneiramento;
- Avaliar da influência do aumento da COV e diminuição de TDH no desempenho dos reatores; e
- Avaliar o potencial dos reatores na remoção de toxicidade aguda.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Descrição geral dos experimentos

Os experimentos foram realizados nos laboratórios do Departamento de Biotecnologia e no laboratório da Estação de Tratamento de Efluentes da Escola de Engenharia de Lorena (EEL) da Universidade de São Paulo (USP). A pesquisa foi dividida em dois estágios. No primeiro, foi avaliada a imobilização de lodo anaeróbio em 6 suportes inertes diferentes, com o objetivo de selecionar os mais adequados para a operação em RALFs. Para isso, foi realizada a caracterização das propriedades físicas e químicas dos suportes e foram realizados testes para determinação da capacidade de aderência de biomassa para formação de biofilme em cada um deles.

O segundo estágio da pesquisa, com a finalidade de estudar o desempenho dos reatores, foi iniciado após a escolha dos suportes mais adequados. Para isso foram construídos três reatores idênticos. No primeiro, foi inoculado o lodo granular (reator EGSB) e nos outros dois foram inoculados os suportes escolhidos no primeiro estágio (RALFs). Após inoculação, foi iniciada a fase de adaptação, na qual os reatores foram alimentados com substrato sintético.

Finalizada a fase de adaptação, foi iniciado o tratamento do efluente. Os reatores foram alimentados com a fração líquida de esterco bovino, simulando efluentes da bovinocultura coletados por jateamento. Os reatores foram operados em 5 fases, cada uma com aproximadamente 18 dias. O TDH variou de 16 a 4 horas, que correspondem a COVs de 7,5 a 30 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$. O desempenho dos reatores foi monitorado através das análises de pH, alcalinidade, DQO e sólidos. Também foi quantificada a produção de metano e foram realizados testes de ecotoxicidade.

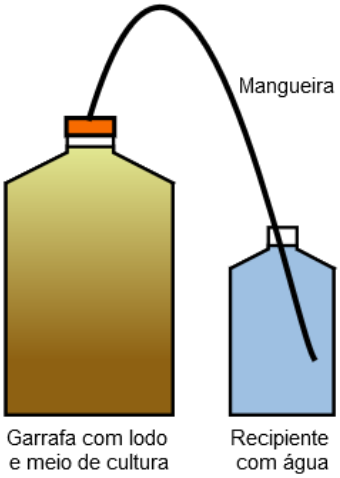
4.2 Obtenção e armazenamento do lodo anaeróbio

O lodo floculado foi coletado de um reator UASB de um digestor anaeróbio da Hy Sustentável, empresa voltada para a produção de energia através de biodigestores. Esse digestor foi alimentado com esterco bovino bruto diluído suplementado com micronutrientes. O lodo coletado foi levado ao laboratório, onde foi peneirado para a remoção de partículas maiores que 1 mm. O lodo granular foi coletado na estação de tratamento de efluentes de uma cervejaria de grande porte. Esse lodo também foi peneirado.

Após peneiramento, os lodos foram colocados separadamente em garrafas com sistema com impedimento de entrada de gás (*airlock*) para evitar a transferência de oxigênio

(Figura 5). As garrafas foram preenchidas com meio de cultura (Tabela 3) com pH entre 6,5 e 7,0, mantidas à 35°C em estufa. O meio de cultura das garrafas foi trocado sempre que a produção de bolhas de gás sofreu redução. Esse sistema foi mantido durante todo o trabalho experimental e o lodo foi utilizado nos experimentos de imobilização e na inoculação dos reatores.

Figura 5 - Representação esquemática do sistema de armazenamento do lodo com *airlock*



Fonte: Autoria própria

Tabela 3 - Composição do meio sintético utilizada para teste da AME, manutenção do lodo e na alimentação dos reatores

Composto	**Concentração (mg/L – exceto o HCl)**
Glicose	5000
NH_4Cl	1000
K_2HPO_4	400
KH_2PO_4	200
$MgCl_2 . 6H_2O$	150
$CaCl_2 . 2H_2O$	360
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	2
$ZnCl_2$	0,05
CuCl2. $4H_2O$	0,03
$MnCl_2 . 2H_2O$	0,5
$(NH_4)2Mo_2O_7 \cdot 24H_2O$	0,05
$AlCl_3$	0,05
CoCl3·$6H_2O$	2
HCl concentrado	1µL

Fonte: Autoria própria

4.3 Seleção dos suportes mais adequados para a formação de biofilme

O objetivo destes experimentos foi determinar quais seriam os suportes mais adequados para a operação em reatores de leito fluidizado.

4.3.1 Suportes

Os materiais testados foram argila expandida, pedra-pomes, basalto, espuma de poliuretano, areia de quartzo e cerâmica *ista quartzite glass*. As características físico-químicas desses materiais foram analisadas através de análises de microscopia, potencial zeta e hidrofobicidade de acordo com a metodologia descrita nos itens 4.9.1.1 e 4.9.1.2.

Para os testes de imobilização, os materiais foram preparados previamente. Todos os materiais, exceto a espuma de poliuretano, foram triturados manualmente. Somente a fração na faixa de 1,00 a 1,69 mm foi utilizada nos experimentos. Os fragmentos foram lavados e calcinados a 500°C por uma hora, para a remoção de matéria orgânica. A espuma de poliuretano foi cortada em cubos de 5 mm e lavada várias vezes com água destilada, antes da sua utilização.

4.3.2 Procedimento usado para a imobilização de microrganismos nos suportes

Foram colocados em frascos Erlenmeyer de 125 mL, individualmente, 15 g de cada um dos suportes citados no item 4.3.2.1 ou 80 cubos de espuma, 50 mL do substrato sintético (Tabela 3) e 50 mL de uma suspensão de lodo floculado com 5,0 $gSV.L^{-1}$. Em seguida, os frascos foram purgados com $N_{2(g)}$ por 5 minutos, vedados com Parafilm M® e colocados em estufa a 35°C, sob agitação a 180 rpm, por 10 dias. Ao final da incubação, os suportes foram separados da biomassa dos frascos e lavados com solução salina, para remover a biomassa não aderida.

A quantificação da biomassa aderida aos suportes foi realizada mediante a análise de SV. Para a espuma, os cubos foram macerados para que a biomassa aderida pudesse se desprender para determinação da sua massa seca. Os outros suportes foram secos em estufa a 100°C, até massa constante. Os resultados finais foram expressos pela razão entre a massa de SV aderida pelo volume de suporte ($mgSV.cm^{-3}_{suporte}$).

A análise da atividade metanogênica foi obtida através do teste de AME descrito no item 4.9.3.

4.4 Obtenção da fração líquida do estrume bovino utilizado como efluente

O esterco bovino foi coletado em uma propriedade rural de gado leiteiro, localizada no município de Aparecida/SP. A coleta foi realizada manualmente com a ajuda de pás, no curral de ordenha das vacas leiteiras (Figura 6). O esterco coletado foi armazenado em baldes para posterior transporte aos laboratórios. No total, foram realizadas 4 coletas em um período de 5 meses.

No laboratório, o esterco foi diluído com água, na proporção de 1:1 (v/v). A separação das fases sólida e líquida do estrume diluído foi realizada de acordo com a metodologia adaptada descrita por Vidal (2015). A mistura foi homogeneizada e as fases sólida e líquida foram separadas manualmente utilizando peneiras com abertura de 1,00 mm. Em seguida, a fração líquida foi homogeneizada novamente e armazenada em garrafas de polietileno com capacidade de 1 L, em um freezer à temperatura de -20ºC. Antes da utilização, o efluente foi descongelado até a temperatura ambiente, homogeneizado e diluído com água, até atingir a concentração de DQO de 5 $g.L^{-1}$.

Figura 6 - Imagens da propriedade rural onde foi coletado o esterco. A: Curral de ordenha das vacas leiteiras visto por fora. B e C: Curral de ordenha visto por dentro.

Fonte: Arquivo pessoal.

4.5 Características e dimensões dos reatores

Foram construídos três reatores idênticos, seguindo o modelo descrito por Kim et al. (2011). Nas Figuras 7 e 8 são apresentados o esquema e as imagens do reator e seus componentes, respectivamente. O reator foi montado a partir de um cilindro de acrílico de 60 cm de altura, 3,4 cm de diâmetro interno e volume total de 540 mL (Figura 7 item B). Na base da coluna foi colocada uma tela com malha de 1,00 mm, com o objetivo de reter os suportes ou os grânulos. Na parte inferior da coluna foi acoplada uma base cônica (funil de plástico), para garantir a homogeneização da fase líquida dentro do reator durante sua operação.

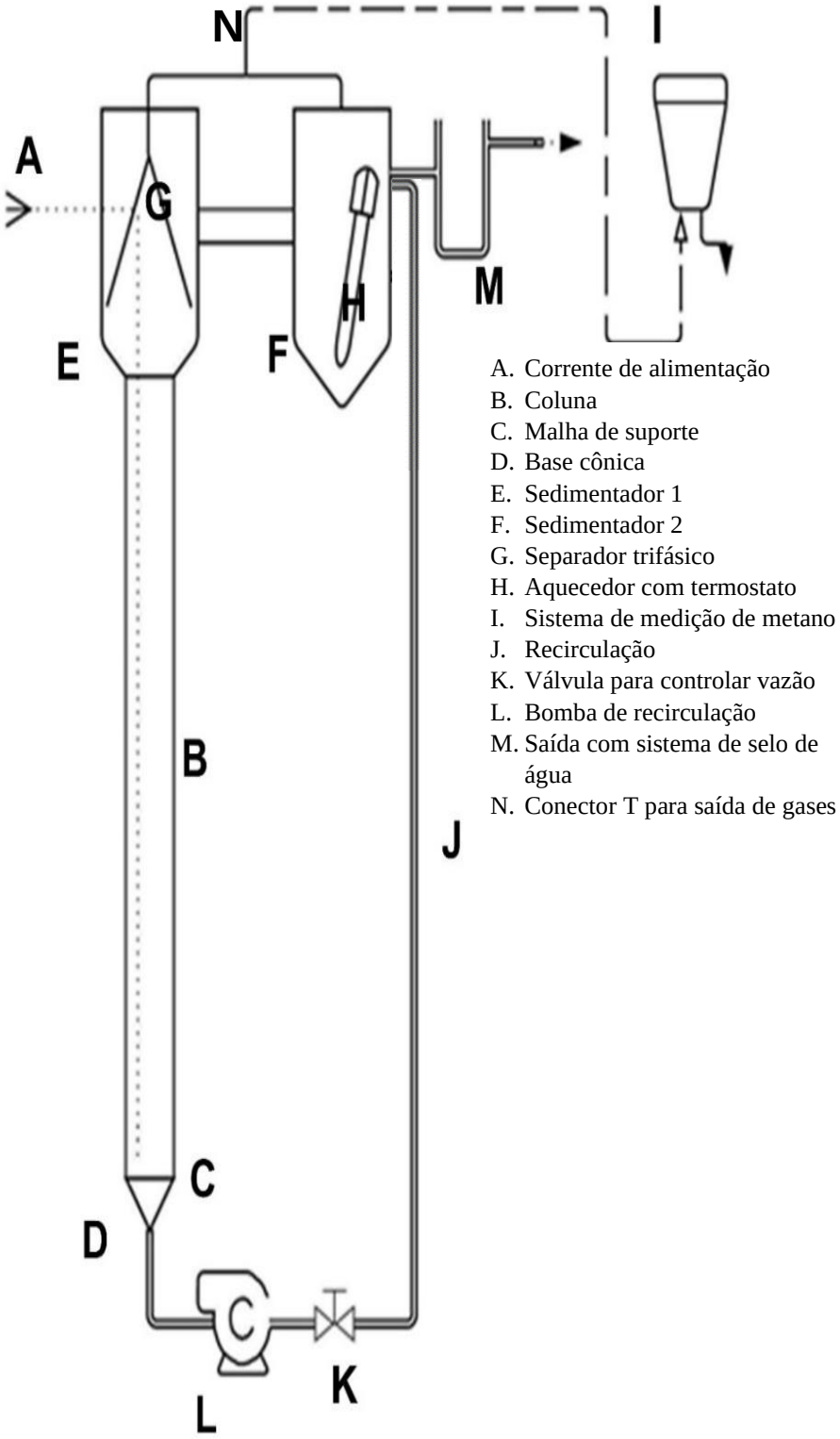
No topo da coluna foi acoplado um sedimentador (Figura7 item E), ligado a um segundo (Figura 7 item F) por um tubo de PVC de 2,5 cm de diâmetro e longitude de 10 cm. Ambos construídos com canos de PVC com altura e diâmetro de 15 e 5 cm, respectivamente. Na base do primeiro, foi acoplado um funil com 4 cm de altura, enquanto que no segundo, o acoplamento foi feito com funil de 6 cm. No interior do sedimentador 1 foi colocado um separador trifásico cônico, para a separação das fases sólida, líquida e gasosa (Figura 7 item G). Na parte superior do separador foi conectada uma mangueira para a saída de gás.

Na parte superior do sedimentador 2, também, foi colocada uma mangueira, mas sem o separador trifásico. As mangueiras para saídas de gases foram unidas através de um conector T (Figura 7 item N). O volume de metano produzido foi determinado por um sistema de deslocamento de líquido, similar ao usado nos testes de AME, descrito no item 4.9.3, Figura 5.

Na parte inferior do sedimentador 2 foi colocada uma mangueira com uma válvula de esfera para remover o material sedimentado. Nesse mesmo sedimentador, a 2/3 da altura, foi acoplada uma mangueira de meia polegada conectada a um cano de PVC para permitir a recirculação do efluente, através de uma bomba centrífuga de aquário da marca Eclipse, modelo MP-500, com capacidade máxima de 500 $L.h^{-1}$ (Figura 8 item D). A vazão da recirculação foi controlada por uma válvula colocada no cano de PVC antes da entrada da bomba. A vazão das bombas foi ajustada para garantir 100% da expansão do leito nos três reatores.

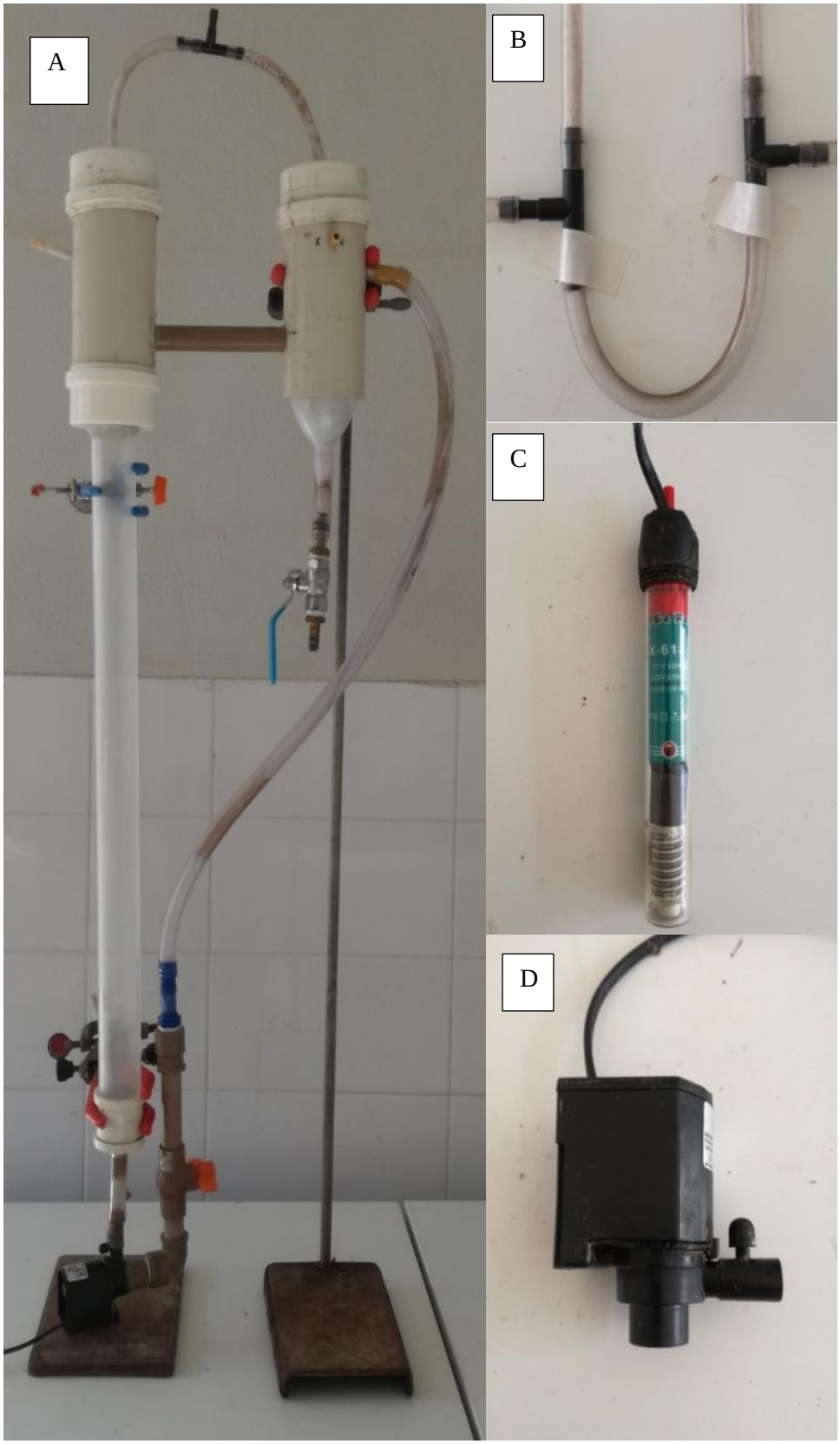
A saída da bomba foi conectada à base cônica do reator através de uma mangueira de polietileno de meia polegada de diâmetro. O controle da temperatura (34°C e 35°C) foi realizado através de aquecedores para aquários equipados com termostato da marca ACE PET, modelo X-618 25W (Figura 7 item H e Figura 8 C) acoplado dentro do sedimentador 2.

Figura 7 - Esquema geral dos reatores construídos no laboratório com seus diversos componentes



Fonte: Autoria própria

Figura 8 - Imagens de um reator construído no laboratório e de alguns componentes



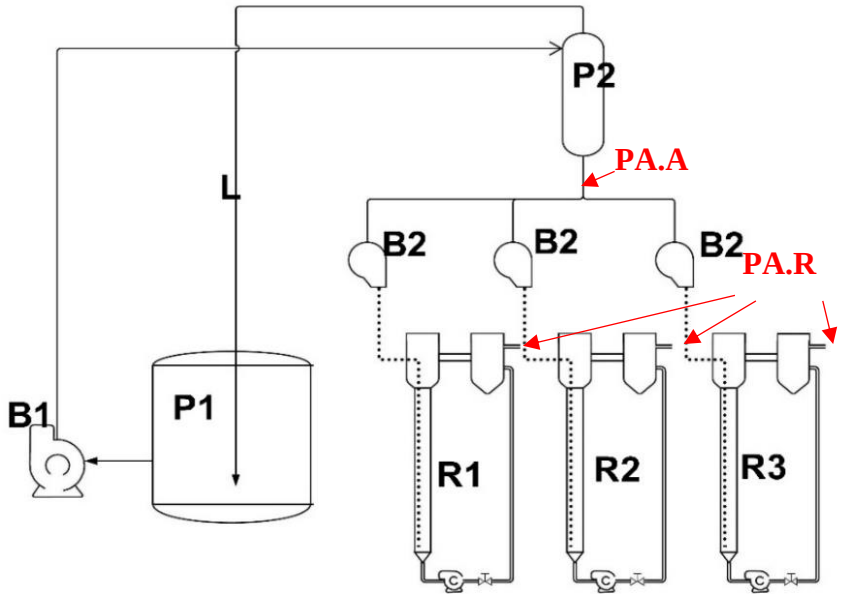
A: Esquema do reator. B: selo de água conectado à saída do reator; C: Aquecedor com termostato. D: Bomba de aquário utilizada para recirculação.

Fonte: Arquivo pessoal

A alimentação dos reatores foi realizada através de bombas peristálticas e a saída foi dada por gravidade, cujo nível de água foi mantido constante usando-se um sistema de selo de água (Figura 7 item M e Figura 8 item B). O volume total do reator foi de 1700 mL.

Os reatores operaram independentemente e foram alimentados por bombas peristálticas com o mesmo substrato segundo o esquema mostrado na Figura 9. O substrato era adicionado ao pulmão 1 e bombeado por uma bomba centrífuga para o pulmão 2, localizado acima dos reatores. O tanque pulmão 2 foi equipado com uma saída de retorno de forma a garantir que esse pulmão se mantivesse sempre cheio. Além disso, esse sistema foi construído com a intenção de manter a homogeneidade do efluente, evitando sedimentação.

Figura 9 - Esquema de alimentação dos três reatores. Os reatores funcionaram independentemente um dos outros, mas foram alimentados a partir do mesmo tanque pulmão.



P1: Pulmão 1
P2: Pulmão 2
B1: Bomba centrífuga
B2: Bomba peristáltica
L: Retorno
R1: Reator 1 - EGSB
R2: Reator 2 - RALF
R3: Reator 3 - RALF

PA.A: Ponto de amostragem da alimentação
PA.R: Pontos de amostragem dos reatores

Fonte: Autoria própria

4.5.1 Pontos de amostragem

Para a realização das análises físico-químicas de monitoramento, amostras da alimentação e dos efluentes (saídas) dos reatores foram coletadas nos pontos de amostragem (Figura 9, itens PA.A e PA.R). Não foram coletadas amostras do interior dos reatores.

4.6 Inoculação dos reatores

4.6.1 Reator EGSB

O reator EGSB foi inoculado com 200 mL de lodo granular contendo 19,8 ± 1,1 gST e 7,5 ±1,6 gSV e 50 mL do lodo floculado contendo 15,3 ± 1,9 gST e 5,2 ± 0,6 gSV. Em seguida, o volume do reator foi completado com substrato sintético (Tabela 3) e colocado em operação. O volume útil deste reator foi de 540 mL.

4.6.2 Imobilização da biomassa em argila expandida e pedra-pomes para inoculação nos RALFs

Em frascos Erlenmeyer de 500mL, foram adicionados 150 g de argila e 140 g de pedra pomes (volume próximo de 140 mL), 150 mL de substrato sintético e 150mL de lodo flocular (≅5,0 $gSV.L^{-1}$). Os frascos foram levados a estufa a 35°C, com agitação de 180 rpm, por 15 dias. Após esse período, os suportes com biomassa aderida foram separados da fração líquida por decantação e transferidos quantitativamente para os reatores, juntamente com 50 mL do lodo floculado contendo 15,3 ± 1,9 gST e 5,2 ± 0,6 gSV. Após a inoculação, o volume dos reatores foi completado com efluente sintético e o sistema foi colocado em operação. O volume útil destes reatores foi de 400 mL.

Os RALFs inoculados com argila expandida e pedra-pomes foram chamados de RALF/AE e RALF/PP, respectivamente.

4.7 Fase de adaptação dos microrganismos em meio sintético

Durante os primeiros três dias, os reatores operaram em batelada sem alimentação. A partir do dia 3, as bombas de alimentação foram ligadas e os reatores foram alimentados com substrato sintético com TDH de 16 h e com vazões de 33,75 e 25,00 $mL.h^{-1}$ para os reatores EGSB e RALFs, respectivamente.

Depois de 103 dias, até o 137º dia, os reatores foram alimentados com uma mistura de substrato sintético e efluente na proporção de 1:1 (v/v).

Durante a fase de adaptação, o monitoramento dos reatores foi realizado através das análises de pH, AT, AP, sólidos e DQO de alimentação e saída de acordo com os procedimentos descritos no item 4.9.1.3.

4.8 Tratamento da fração líquida do estrume bovino

A partir do 137º dia, a fase de adaptação foi encerrada e o tratamento do efluente entrou em operação. Nesta fase os reatores foram alimentados apenas com efluente contendo em média 5gDQO.L^{-1}. A operação foi dividida em 5 fases variando os TDHs e as COVs correspondentes, apresentadas na Tabela 4. Os TDHs foram escolhidos baseando-se nos trabalhos de Garcia H. et al. (2008), Rico C., Garcia e Rico J. L. (2011) e Rico C., Rico J.L. e Lasa (2012). Durante toda a operação, os reatores foram monitorados através medição de produção de metano e das determinações de pH, alcalinidade, ácidos graxos voláteis, sólidos, DQO e NTK, além das determinações de toxicidade do efluente na alimentação e saída dos reatores.

Tabela 4 - Fases do tratamento da fração líquida do estrume bovino com respectivos TDHs e COVs, respectivas vazões de alimentação e o período de duração.

Fase	**Vazão de alimentação (ml.h^{-1})**		**TDH (horas)**	**COV (kgDQO.m^{-3}.d^{-1})**	**Período (entre os dias)**
	EGSB	RALFs			
1	33,75	25,00	16	7,5	137 -155
2	45,00	33,33	12	10	155-173
3	67,50	50,00	8	15	173-193
4	90,00	66,67	6	20	193-211
5	135,00	100,00	4	30	211-226

Fonte: Autoria própria

4.9 Métodos analíticos

4.9.1 Análises físicas e químicas

4.9.1.1 Potencial zeta

O potencial zeta de lodo floculado e dos suportes foi analisado em um medidor Zetasizer Nano Z da Malvern Panalytical do Departamento de Engenharia Química da EEL/USP. A metodologia usada foi adaptada da descrita por Basile et al. (2010).

Os suportes foram triturados e peneirados. Foi usada a fração < a 0,074mm. Em seguida, foram suspensos em água destilada para obtenção de suspensão 2% (m/v).

As amostras do lodo floculado com biomassa livre foram previamente centrifugadas (5000 rpm por 10 minutos) e o material centrifugado foi ressuspenso em água destilada (2% m/v). Posteriormente, as suspensões foram colocadas no medidor de potencial zeta.

4.9.1.2 Hidrofobicidade

Foram realizadas análises da hidrofobicidade do lodo floculado e dos suportes.

A medição da hidrofobicidade da superfície celular do lodo anaeróbio foi realizada seguindo a metodologia MATH (*microbial adhesion to solvents* - adesão de microrganismos a solventes) descrita por Spencer e Spencer (2004).

Foram centrifugados 5 mL de lodo anaeróbio a 5000 rpm por 10 minutos. Então, o material foi ressuspenso em solução salina contendo 0,85% de NaCl (m/v), para obter suspensões com absorbância entre (A_o) 0,4 e 0,6 à 600 nm. Alíquotas de 3,6 mL da suspensão foram transferidas para tubos de ensaio com tampa, após a adição de 0,6mL de tolueno. Em seguida, os tubos foram fechados e agitados vigorosamente em vórtex por 1 min. Posteriormente, os tubos foram mantidos em repouso por 15 min, para separar a fase aquosa do solvente. Finalmente, a fase aquosa foi transferida para tubos de ensaio com a ajuda de pipetas de Pasteur e a absorbância foi medida (A_f). A porcentagem de hidrofobicidade é obtida mediante a aplicação da equação 21.

$$\%Hidrofobicidade = \frac{A_f - A_o}{A_o} x100 \qquad \text{Eq. 21}$$

A medição da hidrofobicidade dos suportes foi realizada através da adaptação da metodologia MATH (NOMURA et al., 2008). As amostras foram trituradas e separadas em uma peneira sendo utilizadas as partículas inferiores a 0,074 mm. O material peneirado foi ressuspenso em uma solução salina contendo 0,85% de NaCl. A hidrofobicidade foi determinada pelo mesmo procedimento utilizada para o lodo anaeróbio, descrito no parágrafo anterior.

4.9.1.3 Análises físicas e químicas do efluente bruto e do tratado

As análises físicas e químicas realizadas e as metodologias adotadas estão listadas na Tabela 3 e descritas posteriormente.

Tabela 5 – Resumo das metodologias e equipamentos usados para as análises físicas e químicas para a análise do meio sintético, da fração líquida do estrume bovino e dos lodos.

Parâmetro	Método	Equipamento	Referência
pH	Potenciométrico	pHmetro – Basic Titrino 794 - Metrohm	APHA (2005)
Alcalinidade (AT, AP AI)	Titulométrico	Titulador automâtico – Basic Titrino 794 - Metrohm	Ribas, Moraes e Foresti (2007)
AGV	Titulométrico	Titulador automâtico – Basic Titrino 794 - Metrohm	Ribas, Moraes e Foresti (2007)
DQO (DQO_t e DQO_d)	Espectrofotométrico	Bloco digestor Sppencer SP 620-25 à 150 ºC Espectrofotômetro UV – visível Dynamica Halo DB-20 a 600 nm	APHA (2005)
Série de sólidos (ST, SV, SF, SS, SSV, SD, SSF, SDV e SDF)	Gravimétrico	Estufa a 105ºC e mufla a 550 ºC	APHA (2005)
Nitrogênio total Kjeldahl (NTK)	Kjeldahl	Bloco digestor Sppencer SP 620-25 até 350ºC Destilador Metrohm	APHA (2005)
Fósforo Total (PT)	Espectrofotométrico	Espectrofotômetro UV – visível Dynamica Halo DB-20 a 600 nm	APHA (2005)

Fonte: Autoria própria

Todas as análises apresentadas na Tabela 3 foram utilizadas na caraterização da fração líquida do esterco. Enquanto que para o monitoramento do desempenho e da estabilidade dos reatores foram utilizadas as análises de pH, alcalinidade, AGV, DQO e sólidos.

Alcalinidade

As análises da alcalinidade total (AT), da parcial (AP) e da intermediária (AI) foram realizadas segundo a metodologia descrita por Ribas, Moraes e Foresti (2007). foi utilizado um Titulador automático Basic Titrino 794 da Metrohm equipado com um pHmetro e um agitador magnético. O titulador foi alimentado com uma solução de 0,1N de HCl e foi configurado com 2 *End points* de pH, o primeiro de 5,75 e o segundo de 4,3.

Primeiramente, foram coletados 10 mL de amostra, colocados em béqueres de 50mL e levados ao agitador do titulador. Em seguida, começou-se a adição automática do ácido até

atingir o primeiro *end point* de 5,75, o volume de ácido gasto foi registrado como $V_{5,75}$. Posteriormente, foi realizada a titulação até o segundo end point de 4,3 e o volume de ácido gasto foi registrado como $V_{4,3}$. O cálculo da AP e AT são mostradas nas equações 22 e 23, respectivamente.

$$AP(mgCaCO_3) = \frac{N_{ac} x V_{5,75} x 50000}{V_{am}} \quad \text{Eq. 22}$$

$$AT(mgCaCO_3) = \frac{N_{ac} x V_{4,3} x 50000}{V_{am}} \quad \text{Eq. 23}$$

Onde N_{ac} é a normalidade do ácido e V_{am} é o volume da amostra. A AI foi calculada usando a equação 24.

$$AI(mgCaCO_3) = AT - AP \quad \text{Eq. 24}$$

Ácidos graxos voláteis

A quantificação de ácidos graxos voláteis (AGV) também foi realizada segundo a metodologia descrita por Ribas, Moraes e Foresti (2007). Para isso, foi utilizado um Titulador automático Basic Titrino 794 da Metrohm equipado com um pHmetro e um agitador magnético. O titulador foi alimentado com uma solução de 0,1N de HCl e foi configurado com 2 *End points* de pH, o primeiro de 5,0 e o segundo de 4,0.

Primeiramente, foram coletados 10 mL de amostra, colocados em béqueres de 50mL e levados ao agitador do titulador. Em seguida, começou-se a adição automática do ácido até atingir o primeiro *end point* de 5,00, o volume de ácido gasto não foi registrado. Posteriormente, foi realizada a titulação até o segundo end point de 4,0 e o volume de ácido gasto foi registrado como $V_{5,0\text{-}4,0}$. A concentração de AGV foi realizada usando a equação 25.

$$AGV\left(\frac{\mathrm{mgCH_3COOH}}{\mathrm{L}}\right) = \frac{131340 x N_{ac} x V_{5,0-4,0}}{V_{am}} - (0{,}00616AT) - 10{,}9 \quad \text{Eq. 25}$$

Onde N_{ac} é a normalidade do ácido, V_{am} é o volume da amostra e AT é a alcalinidade total da amostra.

Série de Sólidos

Para determinação dos sólidos totais presentes na amostra utilizou-se o Método Gravimétrico. Inicialmente, cápsulas de porcelana limpas foram levadas à mufla a 550 °C durante uma hora. Após resfriada, esta foi pesada em balança analítica. Tomou-se este peso como P0 em gramas. Após homogeneização da amostra, 100 mL foram transferidos para a cápsula de porcelana que, a seguir, foi levada ao banho-maria até secura. Em seguida, levada

à estufa a 105 °C para secagem completa. Após resfriada a cápsula foi novamente pesada (P1). O resultado foi expresso a partir da equação 26.

$$Sólidos\ Totais\ (mg.L^{-1}) = \frac{P1 - P0\,.\,10^6}{Volume\ da\ amostra\ (mL)} \qquad \text{Eq. 26}$$

Sendo,

P0 = Peso inicial da cápsula (g);

P1 = Peso final da cápsula contendo resíduo após a evaporação (g);

10^6 = Fator de conversão de g para $mg.l^{-1}$

Em seguida, para determinação de Sólidos Totais Fixos, a cápsula contendo resíduos foi levada à mufla a 550 °C durante uma hora. Após resfriada, foi novamente pesada (P_2). Os resultados foram expressos a partir da equação 27.

$$Sólidos\ Totais\ Fixos\ (mg.L^{-1}) = \frac{P1 - P2\,.\,10^6}{Volume\ da\ amostra\ (mL)} \qquad \text{Eq. 27}$$

Sendo,

P1 = Peso da cápsula contendo resíduo após evaporação (g);

P2 = Peso da cápsula após calcinação (g);

10^6 = Fator de conversão de g para $mg.l^{-1}$

A determinação de Sólidos Totais Voláteis se deu pela diferença entre as concentrações de Sólidos Totais e Sólidos Totais Fixos.

Para a determinação dos Sólidos Suspensos Totais utilizou-se o método gravimétrico. Inicialmente, cápsulas de porcelana foram levadas à mufla a 550 °C por uma hora. Após resfriamento, acondicionou-se nesta cápsula um filtro de fibra de vidro 47 mm, previamente preparado através da filtragem de 100 mL de água destilada. A cápsula, contendo o filtro, foi pesada em balança analítica e o peso foi tomado como P0 em gramas. Após homogeneização da amostra, 100 mL foram filtrados a vácuo utilizando este filtro. Em seguida, a cápsula contendo o filtro foi levada à estufa a 105 °C para secagem. Após resfriada, a cápsula foi novamente pesada (P1). Os resultados foram expressos a partir da equação 28.

$$Sólidos\ Suspensos\ Totais\ (mg.L^{-1}) = \frac{P1 - P0\,.\,10^6}{Volume\ da\ amostra\ (mL)} \qquad \text{Eq. 28}$$

Sendo,

P0 = Peso da cápsula contendo filtro antes da filtragem (g);

P1 = Peso da cápsula contendo filtro após filtragem (g);

10^6 = Fator de conversão de g para $mg.l^{-1}$.

Para determinação dos Sólidos Suspensos Fixos, a cápsula contendo o filtro foi levada à mufla a 550 °C por uma hora. Após resfriada, a cápsula foi novamente pesada (P2).

O resultado foi expresso a partir da equação 29.

$$Sólidos\ Suspensos\ Fixos\ (mg.L^{-1}) = \frac{P1 - P2\,.\,10^6}{Volume\ da\ amostra\ (mL)} \qquad \text{Eq. 29}$$

Sendo,

P1 = Peso da cápsula contendo o filtro após filtragem da amostra (g);

P2 = Peso da cápsula contendo o filtro após calcinação (g);

10^6 = Fator de conversão de g para mg.l^{-1}.

A determinação de Sólidos Suspensos Voláteis se deu pela diferença entre as concentrações de Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Suspensos Fixos.

Para a determinação dos Sólidos Dissolvidos Totais presentes nas amostras as cápsulas de porcelana foram inicialmente levadas à mufla a 550 °C por uma hora. Após resfriada, a cápsula foi pesada em balança analítica. Este peso foi tomado como P0 em gramas. Após a devida homogeneização da amostra, 100 mL foram filtrados a vácuo através de filtro de fibra de vidro 47 mm. O filtrado foi transferido para a cápsula, que foi levada ao banho-maria até secura e em seguida à estufa a 105 °C até secagem completa. Após resfriada, a cápsula foi novamente pesada (P1).

Os resultados foram expressos a partir da expressão 30.

$$Sólidos\ Dissolvidos\ Totais\ (mg.L^{-1}) = \frac{P1 - P0\,.\,10^6}{Volume\ da\ amostra\ (mL)} \qquad \text{Eq. 30}$$

Sendo,

P1 = Peso inicial da cápsula (g);

P2 = Peso da cápsula contendo o resíduo (g);

10^6 = Fator de conversão de g para mg.l^{-1}.

Para determinação dos Sólidos Dissolvidos Fixos, a cápsula anteriormente utilizada foi levada à mufla a 550 °C por uma hora. Após resfriada, a cápsula foi novamente pesada (P2). Os resultados foram expressos a partir da equação 31.

$$Sólidos\ Dissolvidos\ Fixos\ (mg.L^{-1}) = \frac{P1 - P2\,.\,10^6}{Volume\ da\ amostra\ (mL)} \qquad \text{Eq. 31}$$

Sendo,

P1 = Peso da cápsula contendo resíduos após evaporação (g);

P2 = Peso da cápsula contendo resíduos após calcinação (g);

10^6 = Fator de conversão de g para mg.l^{-1}.

A determinação de Sólidos Dissolvidos Voláteis se deu pela diferença entre as concentrações de Sólidos Dissolvidos Totais e Sólidos Dissolvidos Fixos.

DQO_t e DQO_d

Para a análise da DQO_t, foram adicionados 2,5 ml da amostra em uma ampola de 10 mL, 1,5 ml de solução digestora (10,12 g de dicromato de potássio; 33,3 g de sulfato de mercúrio II; 167 ml de H_2SO_4 e em seguida avolumados para 1000 ml com água destilada) e 3,5 ml de solução catalítica (5,5 g de $AgSO_4$/Kg de H_2SO_4). A ampola foi fechada e mantida por 2 horas a 150 °C. A amostra foi mantida ao abrigo da luz e após seu resfriamento, realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV - visível (Dynamica Halo DB-20) a 600 nm. Amostras para a determinação da DQO_d foram previamente filtradas com filtros de 0,45 nm e realizadas o mesmo procedimento descrito anteriormente.

Nitrogênio total Kjendahl (NTK) ou Nitrogênio orgânico total

Para a determinação do NTK presente nas amostras de água foram transferidos para tubos Kjeldahl 2 mL da amostra e em seguida adicionados 10 mL de ácido sulfúrico concentrado e 2,0 g de mistura catalisadora (100 g de sulfato de sódio e sulfato de cobre). Os tubos foram levados ao bloco digestor a 200 °C até que a solução atingisse a coloração esverdeada. Após o resfriamento, a amostra foi levada ao destilador (Büch K - 355) e recolhida em 10 mL de ácido bórico com indicador (6 mL de vermelho de metila e 15 mL de verde de bromocresol em 1 L de ácido bórico) e titulada com ácido clorídrico 0,01 mol. L^{-1}. O Nitrogênio Orgânico Total foi determinado pela seguinte equação: Onde: Va = Volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra (mL); Vb = Volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação do branco (mL); F = Fator de correção para o ácido clorídrico 0,01 mol. L^{-1}; V1 = Volume da amostra (mL).

Fósforo total (PT)

A determinação do PT foi realizada a partir do método do ácido ascórbico (APHA, 2005). Inicialmente, adicionou-se a 50 mL da amostra, 1 mL de ácido sulfúrico concentrado e 5 mL de ácido nítrico. Em seguida, a solução obtida foi levada ao banho-maria por 1 hora a 90 °C. Após resfriamento sob temperatura ambiente, adicionou-se

uma gota de fenolftaleína e neutralizou-se com NaOH 6,5 N, avolumando esta solução em um balão volumétrico de 100 mL. Em seguida, retirou-se 25 mL e adicionou-se 8 mL da solução desenvolvedora de cor (100 mL ácido sulfúrico 5 N; 10 mL de solução de tartarato misto de antimônio e potássio hemihidratado (1,3715 g para 100 mL de água destilada) e 60 mL da solução de molibdato de amônio (20 g para 500 mL de água destilada); e 60 mL de ácido ascórbico 0,1 mol . L-1 (1,76 g para 100 mL de água destilada)). A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV – visível (Dynamica Halo DB-20) a 880 nm até 4 horas após a adição da solução desenvolvedora de cor. As concentrações de PT foram obtidas pela equação gerada a partir de uma curva padrão utilizando uma solução KH_2PO_4 com 219,0 mg . L^{-1}.

4.9.2 Análises por microscopia

4.9.2.1 Microscopia óptica

As características do lodo flocular foram analisadas utilizando um microscópio Motic B3-223 Professional Series. Alíquotas de lodo flocular (2 a 3 gotas) foram colocadas em lâminas de vidro e cobertas com lamínulas. Em seguida, foram colocadas na platina do microscópio e observadas com aumentos entre 40X e 400X.

A forma e as características do lodo granular e dos suportes foram analisadas usando um estereoscópio Motic SMZ-143 Series. As amostras foram colocadas em placas de petri e montadas no estereoscópio.

4.9.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os grânulos de lodo, os biofilmes formados nos suportes e os próprios suportes sem biomassa aderida, foram analisados por MEV. Foi utilizado um microscópio Hitachi TM3000 do Departamento de Materiais da EEL/USP.

Os grânulos e os biofilmes nos suportes foram preparados para serem analisados no MEV. Primeiramente, as amostras foram coletadas e lavadas com solução salina de NaCl 1%. Em seguida, foi adicionado glutaraldeído 2,5% e deixado em contanto por 2 horas para a fixação das células. Posteriormente, as amostras foram lavadas com etanol a 50, 60, 70, 80, 90, 95 e 100% (15 minutos em cada solução), para a desidratação do material. As amostras foram secas em estufa a 60ºC, por 2 horas e, posteriormente, colocadas em dessecador contendo sílica à temperatura ambiente, por um período de 12 h. Em seguida, as amostras foram colocadas em suportes metálicos próprios do equipamento do MEV,

metalizadas (recobertas com ouro) e encaixadas na câmara a vácuo do microscópio, para a análise de varredura eletrônica.

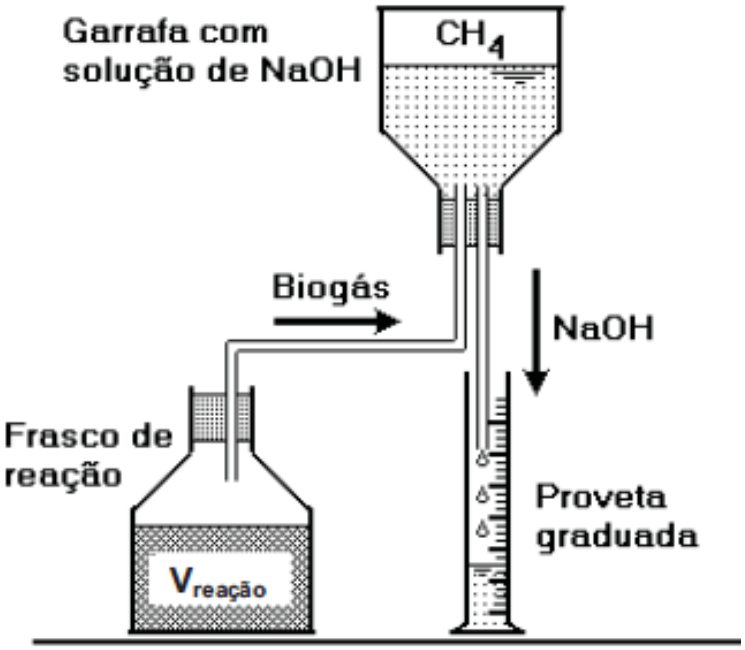
Os suportes sem biomassa foram secos em estufa a 100ºC, por 2 horas e colocados em dessecador, até atingir a temperatura ambiente e, em seguida, colocados nos suportes metálicos do microscópio e levados à câmara a vácuo.

4.9.3 Atividade metanogênica específica (AME)

A AME dos lodos anaeróbios e da biomassa imobilizada em cada suporte suportes foi determinada por Medição Direta do Volume de Metano, pela metodologia descrita por van Loosdrecht et al. (2016) por adaptação do sistema descrito por Aquino et al. (2007) (Figura 10).

Foram usados frascos de vidro de 40 mL com tampas de borracha como frascos de reação. O meio usado foi o mesmo descrito por Chernicharo (2007) e mostrado na Tabela 3. Esse meio foi utilizado para os diversos testes durante todo o experimento. Os frascos foram preenchidos com biomassa e meio na proporção de 2:1 ($gSV_{lodo}.gDQO^{-1}_{meio}$) (VAN LOOSDRECHT et al., 2016).

Figura 10 - Esquema do sistema de quantificação de metano no teste da AME realizada por deslocamento de volume de NaOH, cuja função foi de lavar o CO_2 do biogás



Fonte: Aquino et al. (2007)

Após inoculação, os frascos foram purgados com N_2, fechados com as tampas de borracha e vedados com Parafilm M®. Em seguida, o sistema foi conectado e levado uma estufa a 35°C. A agitação foi realizada manualmente em intervalos de 1 h. O volume de NaOH deslocado pelo CH_4 formado foi quantificado em intervalos de 1 h. O volume medido foi corrigido em termos das condições normais de temperatura e pressão (CNTP). A velocidade de produção de metano (mL CH_4.dia^{-1}) foi determinada graficamente plotando-se a quantidade de metano produzida em função do tempo de reação. A determinação da velocidade específica, foi obtida dividindo-se a velocidade de formação de metano, pela quantidade de SV contidos no lodo inoculado (mL CH_4. dia^{-1}.gSV$_{lodo}^{-1}$).

4.9.4 Testes de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Daphnia similis*

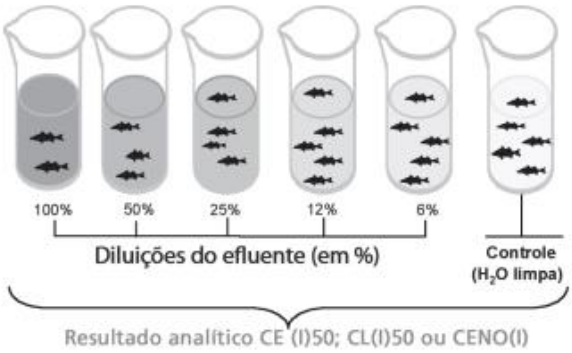
Foi avaliada a toxicidade aguda da fração líquida do esterco bruta e tratada pelos reatores. Para isso foram realizados testes de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Daphnia similis* (Figura 11) segundo a norma NBR 12713 (ABNT, 2011).

Figura 11 – Fotografia do microcrustáceo *Daphnia similis* usado nos testes de toxicidade aguda obtida mediante microscopia ótica com aumento de 10X

Fonte: Arquivo pessoal

Neonatos com 6 a 24 horas de vida foram expostos às amostras por 48 horas em recipientes contendo 20 mL de amostra. Foram utilizadas diferentes concentrações de efluente (bruto e tratado) nos ensaios para avaliar a toxicidade nas diferentes concentrações. Foram utilizadas diferentes concentrações para cada amostrar afim de obter resultados mais precisos do CE_{50}, conforme Figura 12. Os neonatos foram distribuídos em quatro réplicas com 5 organismos em cada uma. Os recipientes com os organismos foram mantidos em câmaras incubadoras com fotoperíodo e sem alimentação durante 48 horas a 20 ± 2 °C.

Figura 12 – Representação didática do esquema geral de um ensaio ecotoxicológico. As diluições do efluentes (%) podem variar dependendo da toxicidade da amostra.



Fonte: Bertoletti E. (2008)

Após o período de exposição, foi realizada a contagem dos organismos imóveis, sendo considerados imóveis aqueles que não conseguiam nadar dentro de um intervalo de 15 segundos, após leve agitação do recipiente.

A concentração responsável por causar a mortalidade ou imobilidade em 50% dos organismos (concentração de efeito - CE_{50}) foi obtida a partir da análise de probitos para determinação das concentrações utilizando o software STATISTICA 7.

A classificação do efluente segundo a sua toxicidade foi realizada de acordo com Persoone G. et al. (2003). Para isso foram calculadas a unidades tóxicas (UT) a partir do CE_{50} utilizando a equação 33.

$$UT = \frac{1}{CE_{50}} \qquad \text{Eq. 33}$$

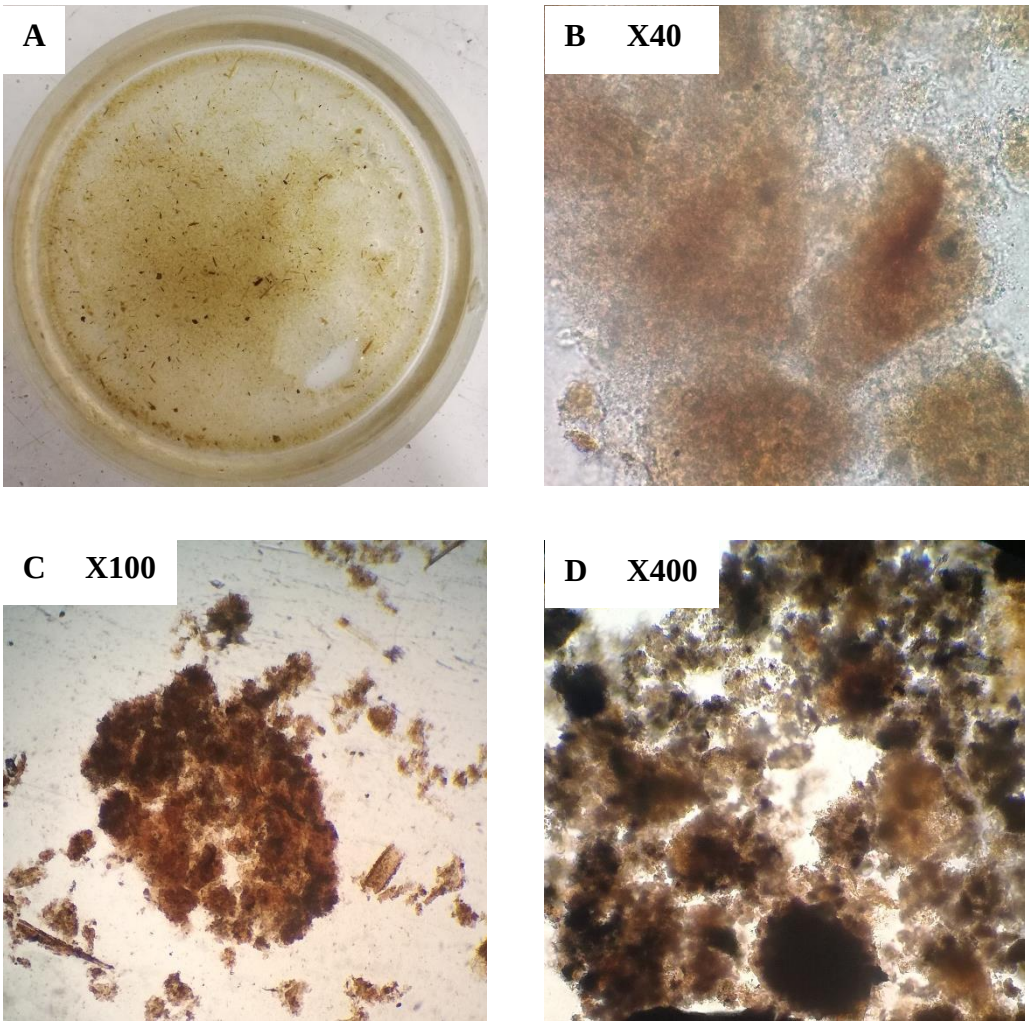
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caraterização dos lodos anaeróbios

5.1.1 Lodo floculado

O lodo floculado coletado do digestor da Hy Sustentável para produção de biogás apresentou partículas de sólidos relativamente grandes (>1 mm). Para eliminá-las, o lodo foi passado em peneira com abertura de 1 mm. O lodo apresentou coloração marrom claro, porém com flocos mais escuros, devido à alta concentração de células. As características macroscópicas e microscópicas do lodo são mostradas na Figura 13. Apesar de ter sido peneirado, o lodo ainda apresentou uma fração sólida, contendo resíduos de palha, com consórcios de células e flocos ao seu redor (Figura 13A).

Figura 13 - Imagens do lodo floculado. A: Lodo floculado com resíduos de palha em uma placa petri. B, C e D: microscopia ótica do lodo floculado com aumentos de 40, 100 e 400 vezes, respectivamente.



Fonte: Arquivo pessoal

O lodo apresentou flocos densos, mas também grande quantidade de células dispersas (Figura 13 B). Na Figura 13C é mostrado um floco isolado, de forma bem definida e com alta concentração de células. Esse floco, formado por aglomerados menores e muito densos, rodeados de células livres, pode ser melhor observado na Figura 13D (interior do floco).

O lodo apresentou 67,3 ± 1,1% de SV e 32,7 ± 1,1% de SF, valores em conformidade com Muri et al. (2018). A fração de SV corresponde principalmente à biomassa e aos polímeros extracelulares envolvidos na aglomeração das células (VELUCHAMY; LEWANDOWSKI; BEYENAL, 2008), enquanto que a fração de SF corresponde aos compostos inorgânicos. O lodo mostrou atividade metanogênica de 75,8 ± 4,8 $mLCH_4.dia^{-1}.gSV^{-1}$. A hidrofobicidade do lodo, medida pelo método MATH, foi de 59,7 ± 5,9%. O potencial zeta foi de -20,13 ± 1,0 mV, o que indicou que a superfície celular estava carregada negativamente. Os valores de hidrofobicidade e potencial zeta encontrados são similares aos valores reportados por Nomura et al. (2008), Zhang et al. (2008), Ahammad et al. (2013) e Muri et al. (2018) para lodos anaeróbios.

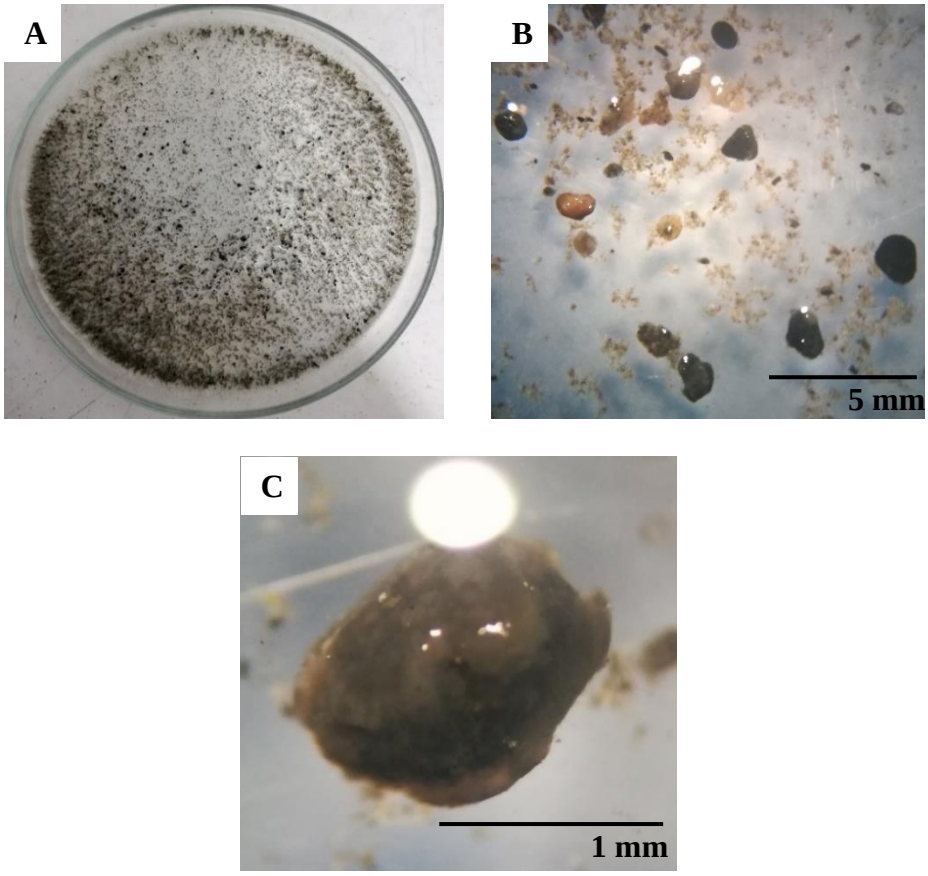
5.1.2 Lodo granular

O lodo coletado na cervejaria de grande porte apresentou grânulos de diâmetro médio na faixa de 0,5 e 2,0 mm, além de material disperso de menor tamanho (Figura 14A). Foram selecionados, através de peneiramento, apenas os grânulos maiores que 1,0 mm. Esses grânulos apresentaram coloração preta intensa. Entretanto, se tornaram gradualmente mais claros durante o período de incubação em meio sintético usando glicose, até atingir coloração marrom. Essa mudança pode ser explicada a partir das alterações das dinâmicas populacionais dentro do grânulo, pelo aumento do número de microrganismos mais adaptados ao meio sintético (KIM et al., 2005).

O lodo usado na inoculação do reator EGSB apresentou AME de 84,4 ± 3,8 mL CH_4. $dia^{-1}.gSV^{-1}$. Ao contrário do lodo floculado, o granular apresentou maior teor de SF (64,5 ± 1,6%) e menor teor de SV (35,5 ± 1,6%). Segundo o Li et al. (2014), a estrutura dos grânulos é mantida por polímeros extracelulares e material inorgânico.

Os grânulos apresentaram estrutura compacta e densa e forma irregular (Figura 14 B e C). A forma dos grânulos é dependente das condições de operação e das forças hidrodinâmicas (LIU; TAY, 2004). Ao contrário dos flocos, os grânulos apresentaram limites bem definidos, com pouca biomassa livre na matriz. O que também foi observado por Liu, Sheng e Yu (2009).

Figura 14 - Imagens do lodo granular. Imagem A obtida por fotografia do lodo em uma placa petri. Imagens B e C obtidas por microscopia ótica em estereoscópio.

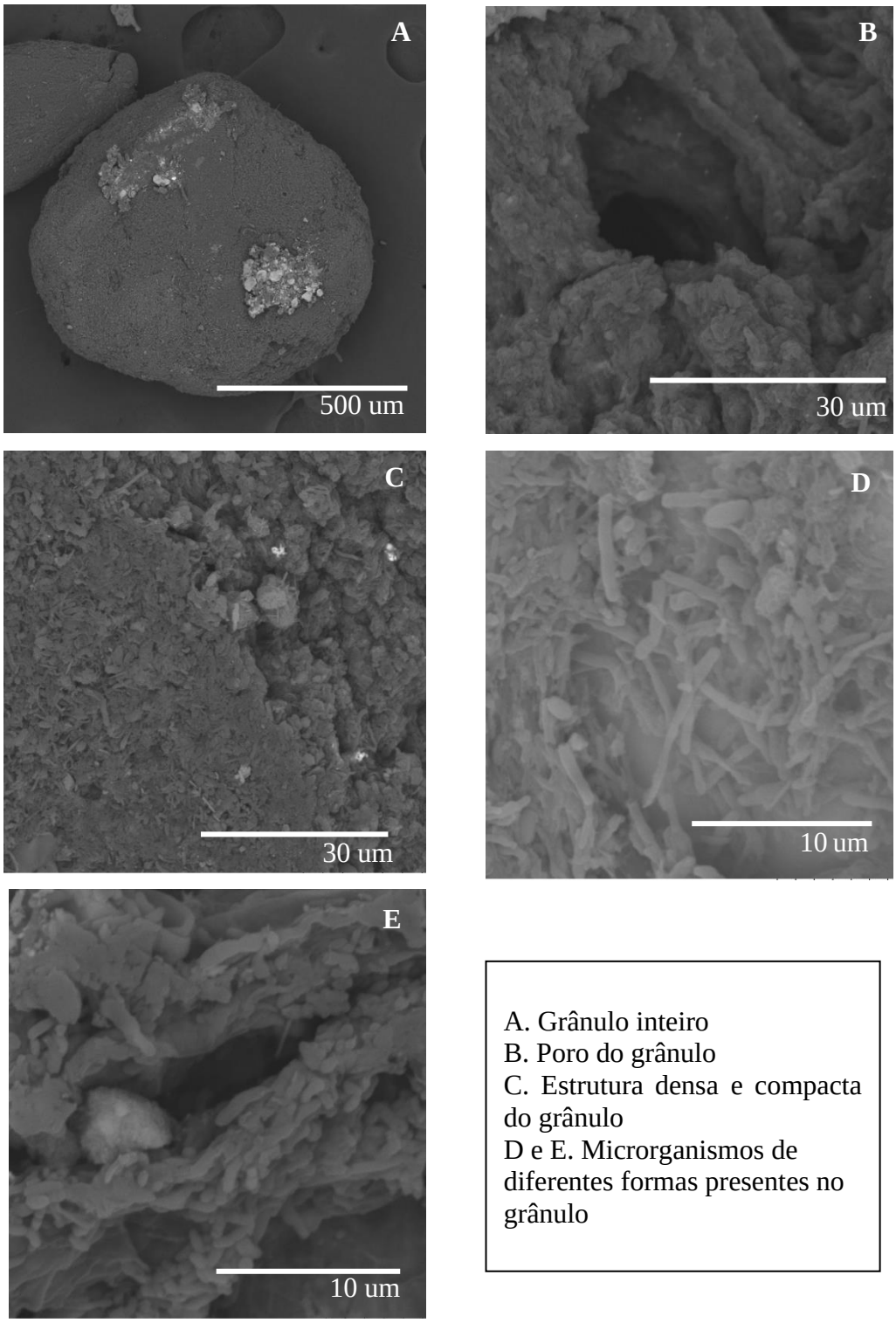


Fonte: Arquivo pessoal

A Figura 15 mostra imagens dos grânulos obtidas por MEV. A estrutura de um grânulo inteiro com superfície majoritariamente regular e lisa pode ser vista na Figura 15 A. Imagens semelhantes foram obtidas por Torres et al. (2018). A Figura 15 B mostra uma cavidade do grânulo que, segundo a literatura, é responsável pelo transporte de gases, substrato e metabólitos (LIM; KIM, 2014; SUBRAMANYAM; MISHRA, 2013). No lado esquerdo da imagem mostrada na Figura 15 C, pode ser vista a superfície intacta do grânulo com muitos microrganismos e material polimérico extracelular, o qual é capaz de manter a estrutura compactada (LI et al., 2014; XU et al., 2018). O lado direito da figura mostra parte da superfície rompida, permitindo a visualização de uma região mais dispersa abaixo da superfície, contendo maior número de microrganismos. No interior dos grânulos são formados canais que favorecem o transporte de substâncias e explicam essa estrutura mais dispersa (JIANG et al., 2016). Ainda, no seu interior (Figuras 15 D e E) podem ser observadas comunidades heterogêneas de microrganismos com forma de cocos, bacilos e

filamentos, descritas também por Torres et al. (2008), Puyol et al. (2009) e Li et al. (2014). Nessas comunidades, houve predominância de bacilos, o que está em conformidade com os resultados obtidos por Wu et al. (2006).

Figura 15 - Imagens resultante da análise com MEV dos grânulos com diferentes aumentos.



Fonte: Arquivo pessoal

Segundo Ahammad et al. (2013) e Subramanyam e Mishra, (2013), as células com forma de bacilos e filamentos poderiam representar microrganismos do gênero *Methanosaeta*, enquanto que os cocos representariam os gêneros *Methanosarcina* ou *Methanococcus.*

5.2 Seleção dos suportes mais adequados para a formação de biofilme

5.2.1 Características dos suportes

Foram testados 6 suportes diferentes: espuma de poliuretano, pedra-pomes, argila expandida, basalto, areia de quartzo e cerâmica. Todos são materiais de baixo custo e de alta disponibilidade.

A superfície dos suportes é uma característica muito importante, usada na escolha dos suportes (SARTI et al., 2016). Suas irregularidades promovem adesão de biomassa, a acumulação de biofilme e aumentam a área superficial do material (FIA et al., 2010). Além disso, as cavidades ou desníveis favorecem a colonização dos microrganismos e as fendas ou fissuras servem, ainda, de barreira para a proteção das células.

Com exceção da espuma, cortada em cubos, todos os suportes, analisados por microscopia óptica e MEV, apresentaram forma irregular (Figura 16).

A espuma de poliuretano (Figura 16A) foi o material mais poroso, leve, fino, flexível e macio, diferente dos outros materiais testados. Sua superfície é lisa e regular, e com poros de diâmetro entre 300 e 600 µm, são muito maiores aos poros observados na argila expandida. Devido a essas características, a superfície específica desse material é muito alta.

A argila expandida apresentou superfície muito porosa, com cavidades de diferentes dimensões variando de 5 e 100 µm (Figura 16B).

A pedra-pomes exibiu menor porosidade que a argila, superfície irregular, com muitas cavidades, fissuras e protuberâncias (Figura 16C).

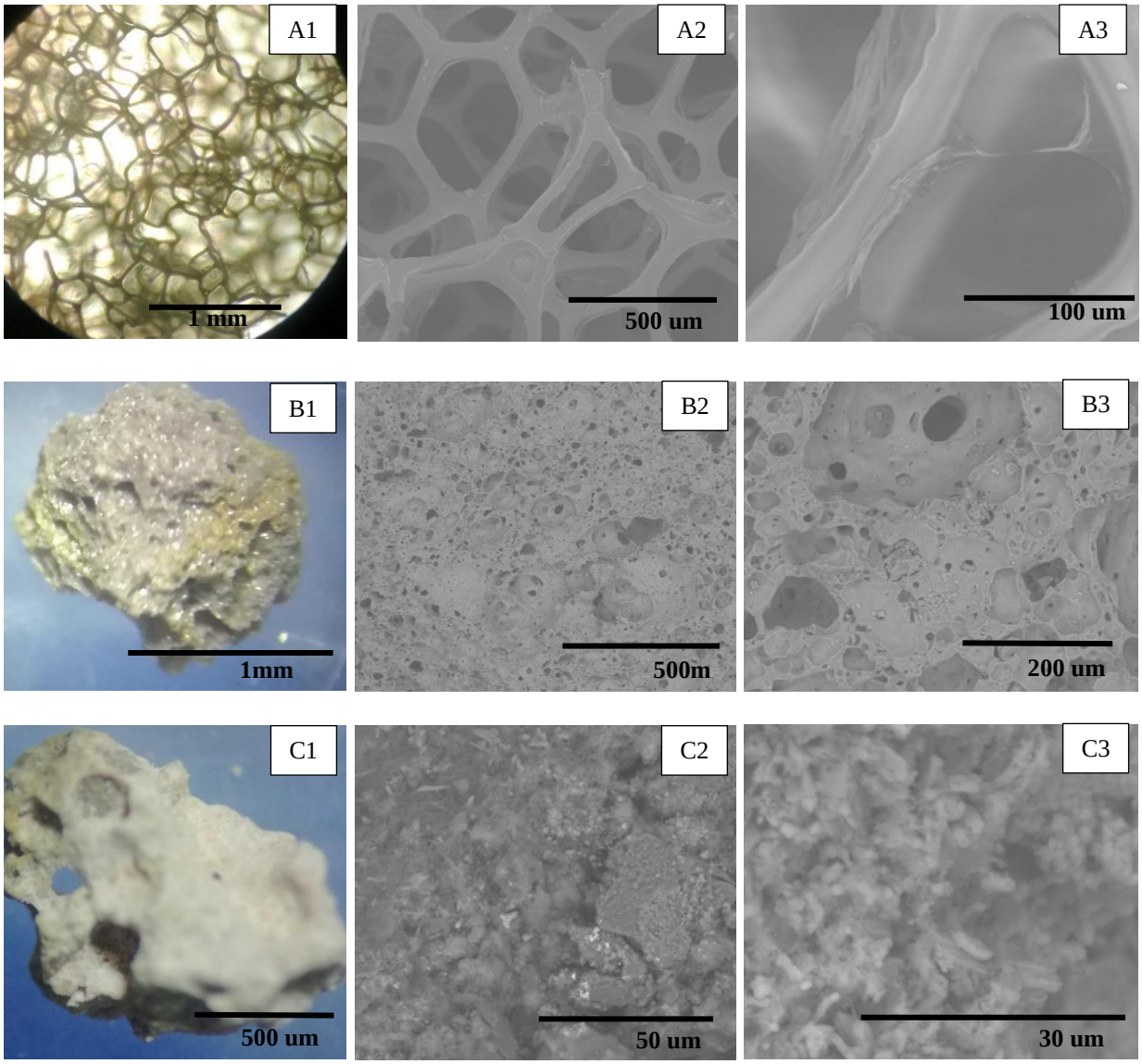
A superfície da cerâmica, semelhante à superfície da pedra-pomes, mostrou-se muito irregular, com presença de furos, fissuras, cavidades, falhas, fendas e protuberâncias (Figura 17D).

O basalto apresentou forma muito irregular, com extremidades pontiagudas e superfície lisa, alguns desníveis e fissuras pouco profundas. Apresentou estrutura compacta e rígida, pouco porosa (Figura 17 E).

A areia de quartzo (Figura 17F) apresentou forma irregular e facetada, superfície lisa, plana e regular, com gretas pequenas, como a da Figura 17 F2. Outra característica refere-se à sua alta densidade e rigidez, muito semelhante ao observado para o basalto.

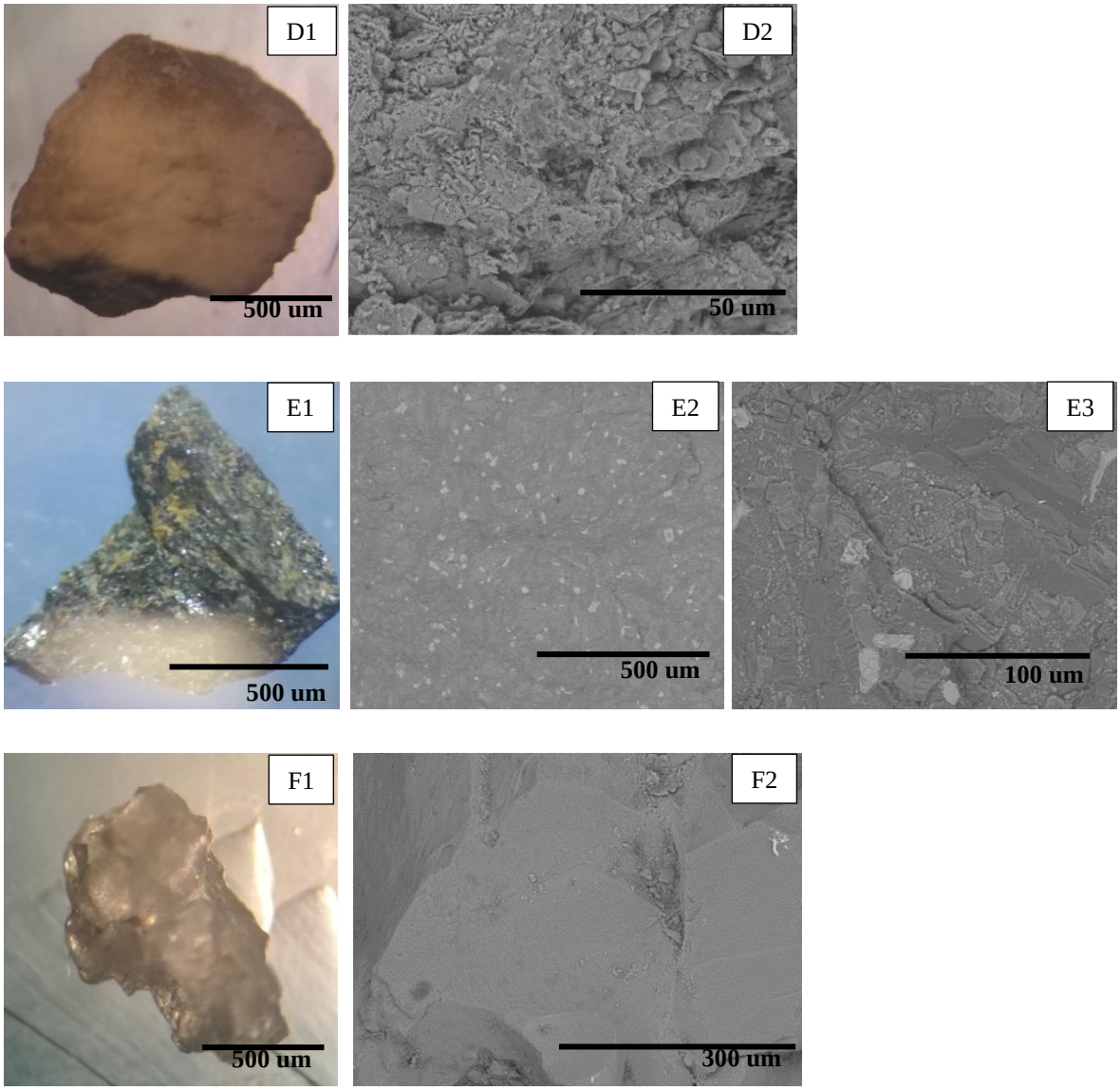
As superfícies dos suportes apresentaram diferentes características. As superfícies da argila expandida, da pedra-pomes e da cerâmica foram as mais irregulares com maior presença de desníveis e furos. As superfícies do basalto e da areia são semelhantes, maiormente lisas com alguns desníveis e algumas gretas. A estrutura e superfície da espuma foi diferente em relação a todos os outros suportes, essas características originaram a alta superfície específica desse material.

Figura 16 - Imagens dos suportes espuma de poliuretano (A), argila expandida (B) e pedra-pomes (C) obtidas por microscopia ótica e MEV.



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 17 - Imagens dos suportes cerâmica (D), basalto (E) e areia (F) por microscopia ótica e MEV



Fonte: Arquivo pessoal

Os resultados da medição da carga da superfície, medida através do potencial zeta, e da hidrofobicidade são mostrados na Tabela 5. Todos os suportes testados e o lodo apresentaram carga negativa. Os mais negativos foram a cerâmica e a areia, enquanto que a pedra-pomes e a argila expandida foram os menos negativos. Todos os materiais mostraram-se hidrofóbicos. A argila expandida a mais hidrofóbica, seguida pelo basalto. Os materiais menos hidrofóbicos foram a pedra-pomes e a cerâmica. Não puderam ser medidos esses parâmetros para a espuma de poliuretano, pois não foi possível triturar o material até pó. No entanto, Bruil et al. (1992) reportou que o potencial zeta da espuma foi de -31,7 ± 2,3 mV.

Tabela 6 - Resultados das análises de potencial zeta e hidrofobicidade dos suportes estudados e do lodo floculado.

	Potencial Zeta (mV)	Hidrofobicidade (%)
Pedra-Pomes	-14,93 ± 1,11	29,46 ± 1,68
Basalto	-22,47 ± 0,24	51,17 ± 8,97
Areia de quartzo	-35,03 ± 1,27	38,03 ± 2,01
Cerâmica	-37,73 ± 1,54	28,40 ± 5,45
Argila expandida	-9,33 ± 0,56	72,74 ± 4,54
Espuma de poliuretano	n.d.	n.d.
Lodo floculado	-20,13 ± 1,00	59,7 ± 5,9

*n.d.: não determinado

Fonte: Autoria própria.

5.2.2 Capacidade de aderência do lodo e AME da biomassa imobilizada

Os biofilmes formados na superfície dos suportes foram analisados por MEV (Figuras 18 e 19). Em todos os biofilmes, foram observados microrganismos na forma de cocos, bacilos e filamentos.

Em quase toda a superfície da espuma se observaram numerosos agregados de células, muito próximos uns dos outros (Figura 18 A1). Nas Figuras 18 A2 e A3, se observam os agregadores celulares, compostos, principalmente, por bacilos, mas também foram observados cocos e alguns filamentosos.

Os microrganismos aderidos à superfície da argila expandida foram, em maioria, filamentosos, com as extremidades arredondadas (Figuras 18 B1 e B2). Foram observadas colônias mais densas nos poros e nas fissuras do material (Figura 18 B3).

Na superfície da pedra-pomes se observaram colônias celulares envolvidas por matrizes ou redes poliméricas mais complexas, que as presentes nos outros suportes (Figura 19 C1 e C2). Foram observadas estruturas pontiagudas formando agregados (círculos vermelhos Figura 18 C2), os quais podem ser estruturas cristalinas, geradas pela precipitação de sais de compostos inorgânicos ou estruvita (cristais de fosfato), formado durante os processos anaeróbios, assim como reportado por Fernández et al. (2007). Na Figura 19 C3, foram encontrados microrganismos envolvidos por filamentos, que fazem parte da matriz extracelular, além de microrganismos de menor tamanho (cocos e bacilos) no meio de bacilos maiores. O biofilme aderidos à pedra-pomes foi composto, principalmente, por bacilos maiores e mais largos do que aqueles observados na espuma (Figura 19 C3 e Figura 18 A3).

Na superfície da cerâmica, se observaram várias células dispersas e isoladas na forma de cocos (Figura 19 D1). Nas gretas ou fissuras também foram observadas colônias densas, dominadas por microrganismos na forma de bacilos (Figura 19 D2).

O biofilme formado no basalto (Figura 19 E1) foi composto, majoritariamente, por microrganismos na forma de cocos, aderidos a uma matriz polimérica. Foram observados também, microrganismos isolados, nas formas de cocos e bacilos, além de microrganismos filamentosos em pequena quantidade (Figuras 19 E2 e E3).

Os microrganismos filamentosos com extremidades achatadas foram os mais abundantes aderidos à areia de quartzo. Essas características são típicas de organismos *Methanosaeta* (AHAMMAD et al., 2013). Ainda nessas figuras, observou-se que os aglomerados celulares se formaram nas fissuras ou gretas da superfície, mas não na parte lisa (Figuras 19 F1 e F2).

Figura 18 - Imagens de colônias aderidas aos suportes espuma de poliuretano (A) e argila expandida (B) observadas por MEV com diferentes aumentos.

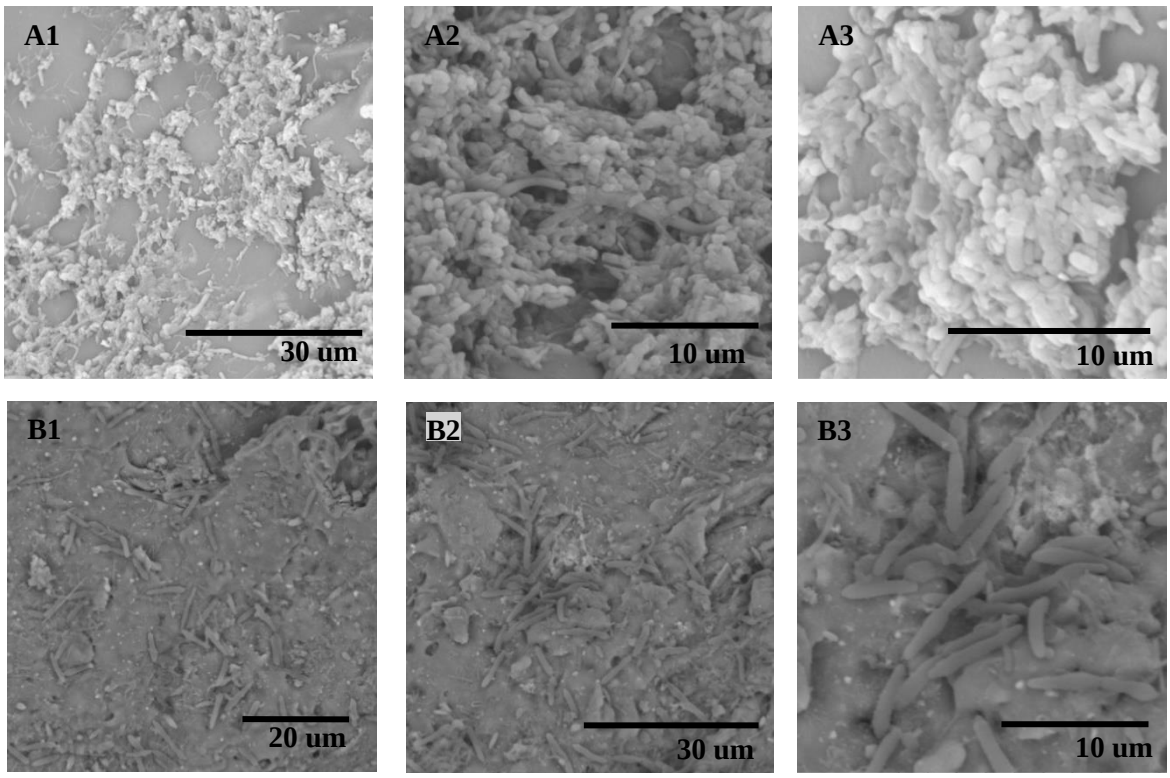
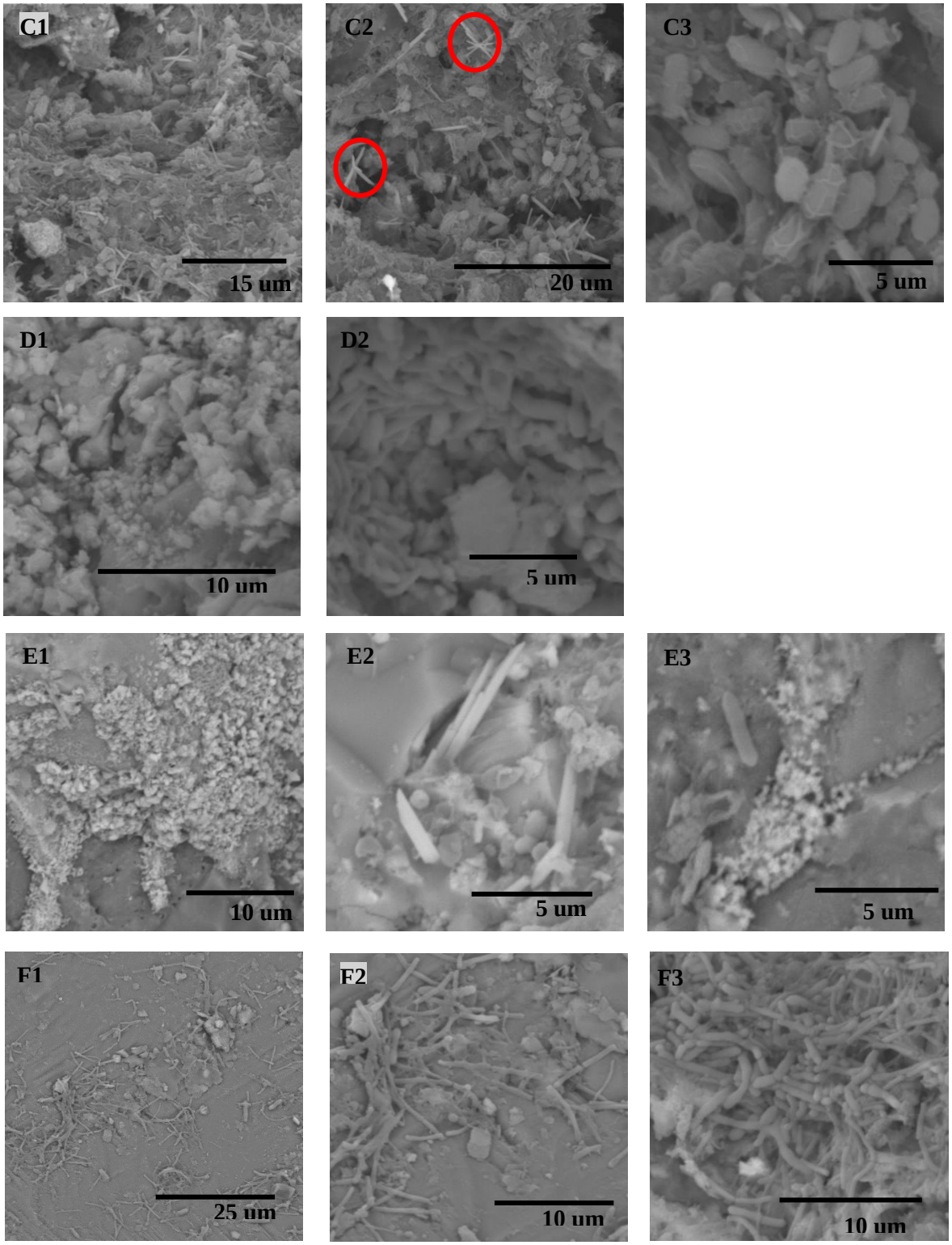


Figura 19 - Imagens de colônias aderidas aos suportes pedra-pomes (C), cerâmica (D), basalto (E) e areia (F) observadas por MEV. Os círculos vermelhos na Imagem C2 podem representar estruturas cristalinas, geradas pela precipitação de sais de compostos inorgânicos.



Fonte: Arquivo pessoal

As imagens apresentadas na Figura 18 mostraram que em cada suporte houve predominância de microrganismos distintos e que as características das colônias e biofilmes

foram diferentes. Esses resultados corroboram o encontrado por Yang et al. (2004), Fia et al. (2010) e Habouzit et al. (2011). Observaram que, para o mesmo inóculo e diferentes suportes, os microrganismos aderidos e a estrutura das comunidades do inóculo e dos biofilmes formados foram diferentes.

A quantidade de SV aderidos nos suportes e AME são mostradas na Tabela 6. Bem como a análise estatística de comparação de médias de Tukey ao de nível de 5% de significância.A aderência de microrganismos foi muito maior na espuma de poliuretano. Foi seguida na ordem por pedra-pomes, argila expandida, cerâmica, basalto e areia de quartzo (Tabela 6).

Tabela 7 - Resultados de imobilização de biomassa nos suportes expressos em mgSV por massa do suporte (mgSV. $g^{-1}_{suporte}$) e por volume do suporte (mgSV. $cm^{-3}_{suporte}$); e resultados dos testes AME das colônias aderidas e do lodo floculado.

Suporte	Biomassa imobilizada (mgSV. $g^{-1}_{suporte}$)	Biomassa imobilizada (mgSV. $cm^{-3}_{suporte}$)	AME ($mLCH_4.gSV^{-1}.d^{-1}$)
Espuma de poliuretano	9712 ± 133*	1020 ± 139*	96 ± 9 bc
Pedra-Pomes	23 ± 3 a	53± 8 a	100 ± 14 bc
Argila expandida	16 ± 2 b	34 ± 4 b	128 ± 13 a
Cerâmica	8± 2 c	21 ± 4 c	91 ± 8 c
Basalto	3 ± 1 d	8 ± 3 d	109 ± 9 b
Areia de quartzo	1 ± 1 d	4 ± 2 d	93 ± 7 c
Lodo floculado	-	-	76 ± 5 d

Resultados testes de Tukey: letras minúsculas iguais referem grupos sem diferenças nas colunas ↕. *A espuma de poliuretano não foi incluída nessas comparações.

Fonte: Autoria própria

Das principais propriedades envolvidas no processo de aderência destacam-se o caráter hidrofóbico, a carga e a área de superfície específica dos suportes usados para imobilização de microrganismos.

As interações entre a superfície dos suportes e das células podem facilitar ou dificultar a adesão. As forças eletrostáticas e as interações hidrofóbicas são vitais durante a fase inicial da formação dos biofilmes (AHAMMAD et al., 2013). A carga das superfícies está envolvida nas interações eletrostáticas, as quais são mais fortes quando as diferenças de carga são maiores. A carga pode ser medida através do potencial zeta, que é o potencial elétrico entre a fase aquosa e a camada de fluido aderida a uma matriz, neste caso microrganismos ou suportes. Ademais, a carga da superfície tem um papel importante na manutenção e regulação das atividades celulares (BASILE et al., 2010).

A pesar das diferenças de carga entre o lodo e cerâmica e areia terem sido maiores do que nos outros suportes estudados (Tabela 5), a adesão de biomassa a eles não foi tão significativa. A adesão foi maior em argila expandida e pedra-pomes, as quais apresentaram as cargas negativas menores. Assim, a melhor adesão de microrganismos a esses suportes poderia ter sido influenciada, não pela carga em si, mas por outro tipo de interações, como por exemplo interações de van der Waals, dipolo-dipolo e ligações de hidrogênio. Ahammad et al. (2013) observaram que organismos metanogênicos carregados negativamente (-24 mV) aderiram mais a suportes carregados negativamente (-24 e -25 mV) que a suportes carregados positivamente (+48 e +55 mV).

Nguyen et al. (2016) relataram que a hidrofobicidade, a baixa energia de superficial e as forças de van der Waals teriam papeis mais importantes na adesão de células aos suportes que o potencial zeta, pois essas forças são capazes de isolar as superfícies de contato, promovendo maior adesão. De fato, a hidrofobicidade tem sido descrita como uma das propriedades mais importantes envolvidas no processo de adesão de biomassa (FAILLE et al., 2002; NOMURA et al. 2008; MURI et al., 2018). Liu et al (2004) reportaram que quando as superfícies dos suportes e da biomassa são hidrofóbicas, a adesão é altamente facilitada, por diminuir as forças de repulsão causadas pelas interações eletrostáticas. Nomura et al. (2008) notaram que, embora as interações eletrostáticas facilitem a adesão, as interações hidrofóbicas são as que determinam e permitem a ligação entre as células e a superfície dos suportes.

Entretanto, todos os materiais testados neste trabalho foram hidrofóbicos e permitiram a adesão do lodo, que também foi caraterizado como hidrofóbico (Tabela 5). Sousa, Teixeira e Oliveira (2009) observaram que células hidrofílicas aderiram em maior quantidade a um suporte hidrofílico do que a um hidrofóbico e que a rugosidade do suporte teria, neste caso, promovido a adesão. Muri et al. (2018) constataram que microrganismos anaeróbios aderiram mais ao suporte Mutag BioChip (hidrofóbico) que a suportes hidrofílicos e que, além da hidrofobicidade, a adesão foi promovida pela numerosa quantidade de poros na superfície desse material.

A maior capacidade de adesão dos microrganismos na espuma pode ser atribuída à alta área superficial específica desse suporte. Essa conclusão é corroborada pelos dados de Oliveira et al. (2009) que reportaram área superficial específica 43 vezes maior da espuma em relação a argila expandida. A estrutura porosa da espuma de poliuretano tem mostrado

melhor desempenho que outros materiais porosos e de baixa densidade, tais como, o feltro de carbono e lã de rocha (YANG et al., 2004).

Fia et al. (2010) observaram adesão de 1300 mgSV $.g^{-1}_{espuma}$ em contraste da escória de alto forno (39 $mgSV.g^{-1}$) e da brita (37 $mgSV.g^{-1}$) e atribuíram a diferença à área superficial específica desses materiais. Damasceno et al. (2007) reportaram adesão em entorno de 1400 $gSV.g^{-1}_{espuma}$. Resultados similares de adesão foram reportados por Ribeiro et al. (2005) (1500-1700 $mgSV.g^{-1}_{espuma}$). Esses autores reportaram que a adesão variou de acordo com as características do meio. Diferentes fontes de carbono provocaram a formação de substâncias extracelulares distintas. Observaram também que a presença de substâncias oleosas pode alterar as propriedades das superfícies dos suportes e, consequentemente, sua afinidade com as células. Antonio-Carmona et al. (2015) reportaram a adesão de 650 $mg_{biomassa}.g^{-1}_{espuma}$ e que o tratamento químico da espuma pode promover sua capacidade da adesão, por modificar a afinidade entre o suporte e as células.

Os suportes que apresentaram superfícies altamente irregulares (cerâmica, argila expandida e pedra-pomes) apresentaram maior capacidade de adesão de microrganismos que os suportes com superfícies mais regulares (areia e basalto), assim foi associada a rugosidade da superfície de cada material à maior capacidade de adesão. Conclusões semelhantes foram obtidas por Borja et al. (1993) quando compararam sepiolita, saponita e bentonita. Da mesma forma, Fernandez et al. (2007) e Adu-Gyamfi, Ravella e Hobbs (2012) mostraram que a grande capacidade de aderência do zeolito estava associada à sua grande área superficial específica e ao tamanho dos poros. Constataram, ainda, que essas características levaram a uma maior produção de metano no processo estudado.

Além da área superficial específica e rugosidade, a biocompatibilidade entre o suporte e o lodo anaeróbio é outro fator importante a ser levado em consideração (LIU et al., 2017). No entanto, nem sempre, a rugosidade é um fator preponderante para a adesão de biomassa no suporte. Habouzit et al. (2011) constaram que as diferenças de rugosidade de 7 suportes estudados (polietileno, polipropileno, PVC-policloreto de vinila, acrilonitrila-butadieno-estireno, policarbonato, vidro borossilicato e aço inoxidável) não influenciaram a aderência de biomassa.

A adesão das células aos suportes e a produção de polímeros extracelulares modificam as características da superfície do material (ZHANG et al., 2008). O potencial zeta, a hidrofobicidade e outras características variam durante o processo de adesão. Pelo

descrito até aqui, pode-se concluir que o processo de adesão é bastante complexo, e a determinação dos fatores que influenciam a adesão e formação de biofilme em superfícies sólidas devam ser mais estudados.

Neste trabalho, em particular, foi observado que a adesão foi influenciada, principalmente, pela área superficial específica do suporte e irregularidade de sua superfície.

Na Tabela 6 são mostrados os resultados dos testes da AME. O teste de comparação de médias de Tukey (5% nível de significância) mostrou que a biomassa livre (76 ± 5 $mLCH_4.dia^{-1}.gSV^{-1}$) apresentou menos AME que a imobilizada em todos os suportes, resultado em conformidade com Wang et al. (2012) e Basile et al. (2010). A biomassa aderida à argila expandida exibiu melhor AME (128 ± 13 $mLCH_4.dia^{-1}.gSV^{-1}$), enquanto as biomassas aderidas à areia de quartzo (93 ± 7), espuma de poliuretano (96 ± 9), cerâmica (91 ± 8), basalto (109 ± 9), pedra-pomes (100 ± 14) não apresentaram diferenças significativas. Esses resultados mostraram que a quantidade de biomassa imobilizada não é necessariamente diretamente proporcional à atividade e ao metabolismo dos microrganismos (KERČMAR; PINTAR, 2017). Isto fica claro quando se compara a AME dos microrganismos aderidos à argila expandida com aquela obtida a partir da espuma de poliuretano, a qual, de longe, imobilizou maior quantidade de biomassa (Tabela 6). Resultados similares foram obtidos por Garcia M. et al. (2008) quando compararam a aderência de lodo anaeróbio à bucha vegetal e à polietileno. A quantidade de microrganismos aderidos ao primeiro foi muito maior do que ao segundo, porém, neste último houve predominância de microrganismos metanogênicos, o que levou a uma maior produção de metano. Os microrganismos aderidos à bucha vegetal entraram em competição pelo substrato com os organismos metanogênicos, diminuindo a produção de CH_4. Da mesma forma, Habouzit et al. (2011) notaram que apesar do PVC não facilitar a adesão, o biofilme aderido apresentou maior potencial metanogênico do que outros suportes estudados por eles. Gong et al. (2011), também, observaram que fibra de carvão ativado, com pequena adesão de biomassa, foi eficiente no processo de digestão anaeróbia.

Avaliar a atividade microbiana é de grande importância para o monitoramento dos sistemas biológicos e a viabilidade dos processos. Os testes da AME consistem na avaliação da capacidade dos microrganismos para transformar substratos orgânicos em metano e CO_2. Neste trabalho, foi usada glicose como fonte de carbono, pois permite avaliar a atividade do consórcio e não só dos microrganismos metanogênicos (AQUINO et al., 2007).

As diferenças entre as atividades das biomassas aderidas são causadas, principalmente, por dois fatores. O primeiro relacionado com a adesão seletiva de diferentes espécies de microrganismos a cada suporte (NOMURA et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009; NGUYEN et al., 2016; LIU et al., 2017). Isso induz a rotas metabólicas distintas em cada biofilme e, consequentemente, diferentes capacidades de transformar o substrato (WEIB et al., 2013). As imagens obtidas por MEV (Figuras 18 e 19) mostraram que as colônias nas superfícies dos suportes foram dominadas por diferentes tipos de células, como já discutido anteriormente. As colônias aderidas à argila expandida devem ter se adaptado melhor ao substrato e o transformaram de forma mais eficiente que as outras. Por outro lado, os microrganismos aderidos a espuma, basalto e pedra-pomes, apesar de terem sido aparentemente muito diferentes, apresentaram AMEs similares. Essas diferenças observadas não deixam de ser uma opção interessante para a imobilização de microrganismos específicos que podem ser utilizados em diferentes tipos de reatores.

O segundo fator está relacionado com a criação de um ambiente influenciado por cada suporte. Alguns são capazes de promover condições ideais para favorecer as relações sintróficas, resultando no melhor uso do substrato (ZAIAT et al., 1997; FERNANDEZ et al., 2007). Isto poderia explicar a menor AME da biomassa livre em relação à biomassa aderida aos suportes estudados (Tabela 6). Provavelmente a alta hidrofobicidade da argila expandida tenha favorecido o metabolismo dos microrganismos metanogênicos e, consequentemente, facilitada a velocidade de produção de metano. Adicionalmente, Borja et al. (1993), Fia et al. (2010), Wang et al. (2012) concluíram que, dependendo das características dos suportes, pode ocorrer a troca de íons entre a sua superfície e o meio. A presença de íons, tais como sódio, ferro e magnésio, favorecem o metabolismo microbiano e a metanogênese. Dessa forma, todos os suportes, com exceção da espuma, podem ter favorecido o intercâmbio de íons com o meio aumentando a atividade metabólica dos microrganismos.

A escolha dos suportes mais adequados, para sua utilização em reatores de digestão anaeróbia, é importante, pois permite maior retenção de biomassa, estabilidade dos microrganismos, transformação do substrato e produção de metano (FERNANDEZ et al., 2007; MURI et al., 2018; GONG et al., 2011; HABOUZIT et al., 2011; ADU-GYAMFI; RAVELLA; HOBBS, 2012; LIU et al., 2017). Assim, para esse trabalho, foram escolhidos como suportes a argila expandida e a pedra-pomes. A argila expandida foi escolhida por permitir boa adesão celular e melhor AME. A pedra-pomes apresentou, após a espuma,

maior adesão de biomassa e sua AME foi satisfatória. A espuma de poliuretano, apesar de permitir maior aderência de biomassa, não foi escolhida, devido à sua baixa densidade. Sua utilização em reatores de leito fluidizado demandaria fluidização com fluxo inverso, como no caso do reator utilizado por Bialek et al. (2011). Os reatores construídos para este trabalho inviabilizam esse tipo de fluidização.

5.3 Caracterização do efluente

Foram coletados 4 lotes de esterco, dos quais, as frações líquida e sólida foram separadas por peneiramento. As frações líquidas de cada lote foram diluídas para concentrações de DQO próximas a 5 $g.L^{-1}$, antes de serem usadas para alimentar os reatores (efluentes). Após diluição, o efluente de cada lote foi caraterizado e os resultados são apresentados na Tabela 7. O lote 1 foi usado durante o período de adaptação, o lote 2, na primeira fase do tratamento, o lote 3 nas fases 2 e 3, e o lote 4 nas fases 4 e 5.

Os valores encontrados para cada parâmetro analisado a partir dos efluentes gerados nas diversas coletas de estrume bovino não mostraram diferenças estatisticamente significativas.

A média do pH foi de 7,8 ± 0,2, próximo do limite ideal de pH para o desenvolvimento dos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia, sem que houvesse necessidade de correção de pH. A AT e a AP, correlacionadas com os valores de pH encontrados, foram de 888 ± 179 e 519 ± 118 $mgCaCO_3.L^{-1}$, respectivamente. O valor de AGV foi de 510 ± 154 $mgCH_3COOH\ .L^{-1}$.

O valor de DQO_t, que está relacionado ao teor de matéria orgânica do efluente, foi mantido em 5,0 ± 0,3 $g.L^{-1}$. A relação DQO_d/DQO_t ficou próxima de 0,3, o que representa 30% da matéria orgânica solúvel. Esses valores estão próximos aos relatados por Wilkie et al. (2004) para esterco coletado por jateamento, cujo valor foi próximo de 0,37.

Por outro lado, a razão DQO_d/DQO_t encontrada neste trabalho foi inferior à obtida por outros autores que separaram o efluente do estrume bovino por um processo seguido de floculação, coagulação e peneiramento, cuja proporção variou de 0,86 a 0,96 (GARCIA H. et al., 2008; RICO,C.; GARCIA; RICO, J.L., 2011; RICO et al., 2012).

Tabela 8 - Caracterização de cada lote da fração líquida do esterco (previamente diluída até 5 gDQO.L^{-1}) usada para a alimentação dos reatores e a média final

Parâmetros	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Média
pH	7,8 ± 0,3	7,6 ± 0,2	7,8 ± 0,2	7,8 ± 0,2	7,8 ± 0,2
AT (mgCaCO$_3$.L^{-1})	877 ± 69	869 ± 79	972 ± 208	788 ± 161	882 ± 179
AP (mgCaCO$_3$.L^{-1})	601 ± 43	541 ± 104	547 ± 131	454 ± 98	519 ± 118
DQO$_t$ (g.L^{-1})	4,8 ± 0,2	4,8 ± 0,2	5,1 ± 0,3	5,0 ± 0,4	5,0 ± 0,3
DQO$_d$ (g.L^{-1})	1,5 ± 0,3	1,6 ± 0,3	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,3	1,5 ± 0,3
ST (g.L^{-1})	5,0 ± 0,6	4,8 ± 0,6	5,0 ± 0,4	5,3 ± 0,4	5,0 ± 0,5
SV (g.L^{-1})	3,8 ± 0,5	3,6 ± 0,4	3,8 ± 0,3	4,1 ± 0,3	3,9 ± 0,4
SF (g.L^{-1})	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,1 ± 0,2	1,2 ± 0,6	1,2 ± 0,2
SS (g.L^{-1})	2,6 ± 0,6	2,6 ± 0,5	2,6 ± 0,1	2,9 ± 0,2	2,7 ± 0,3
SSV (g.L^{-1})	2,5 ± 0,3	2,3 ± 0,2	2,6 ± 0,3	2,7 ± 0,1	2,5 ± 0,4
SSF (g.L^{-1})	0,28 ± 0,03	0,23 ± 0,05	0,26 ± 0,06	0,23 ± 0,09	0,25 ± 0,06
SD (g.L^{-1})	2,4 ± 0,5	2,2 ± 0,2	2,4 ± 0,2	2,4 ± 0,3	2,4 ± 0,3
SDV (g.L^{-1})	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,2
SDF (g.L^{-1})	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,3
NTK (mg.L^{-1})	330 ± 30	314 ± 29	324 ± 30	327 ± 27	324 ± 28
PT (mg.L^{-1})	18 ± 3	18 ± 2	19 ± 2	16 ± 1	18 ± 2

AT: alcalinidade total. AP: alcalinidade parcial. DQOt: DQO total. DQOd: DQO dissolvida. ST: sólidos totais. SV: sólidos voláteis. SF: SV: sólidos voláteis. SS: Sólidos suspensos. SSV: SS voláteis. SSF: SS fixos. SD: Sólidos dissolvidos. SDV: SD voláteis. SDF: SD fixos. NTK: nitrogênio total Kjeldahl. PT: fósforo total.
Fonte: Autoria própria.

A relação SV/ST foi de cerca de 0,78, mostrando que no efluente predomina matéria orgânica. Esse valor é similar ao encontrado por Wilkie et al. (2004) (0,67), Liao, Lo e Cheng (1984), Lo e Liao (1985) e Vidal (2015), cujas proporções variaram entre 0,61 e 0,81.

A relação de DQO$_t$:NTK:PT para os efluentes foi de aproximadamente 250:16,2:0,9. A razão ideal preconizada por Ammary (2004) é de 250:5:1. A comparação dos valores mostra que o efluente apresentou excesso de nitrogênio, porém, valores de fósforo próximos ao referenciado, não sendo necessária a sua suplementação. O teor de micronutrientes do efluente não foi determinado, pois segundo a literatura, a fração líquida do esterco pode ser anaerobicamente tratada de forma eficiente sem a adição dos mesmos (RICO, C; RICO, J. L., LASA; 2012; VIDAL, 2015; DIAS, 2017).

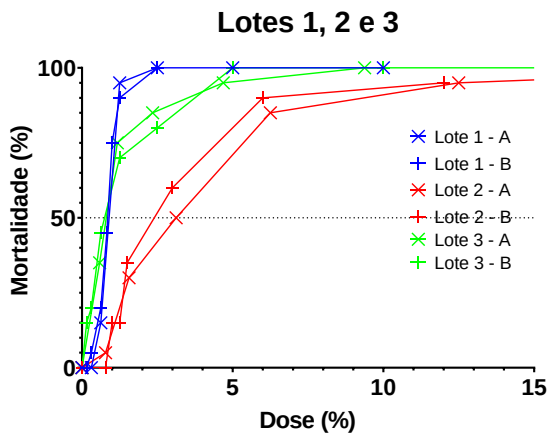
Apesar de não ter sido detectadas diferenças estatisticamente significativas nos parâmetros analisados, foi observada toxicidade aguda, nos testes com *Daphnia similis*, para os efluentes obtidos nas diferentes coletas.

A toxicidade aguda dos efluentes foi determinada através de testes com *Daphnia similis*. Os resultados são apresentados na Figura 20 A e B. O efluente gerado a partir do lote 4 apresentou toxicidade baixa. Esse efluente na concentração de 100% apresentou mortalidade menor do que 50% dos indivíduos utilizados.

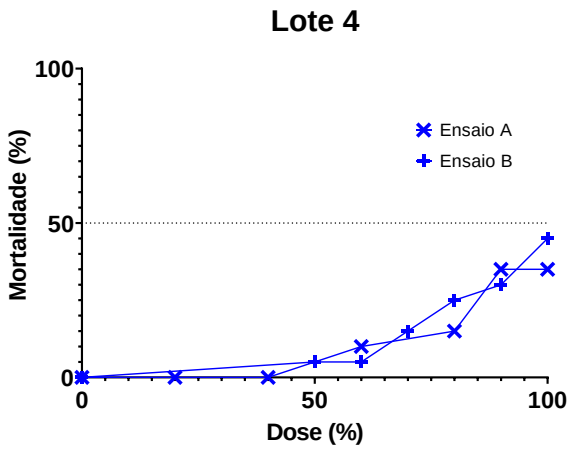
Por outro lado, os efluentes gerados pelos lotes 1, 2 e 3, foram altamente tóxicos. Os efluentes dos lotes 1, 2 e 3 causaram 100% de mortalidade para as concentrações de 2%, 20% e 5%, respectivamente.

Figura 20 - Taxa de mortalidade em relação à dose do efluente proveniente dos testes de toxicidade aguda com *D. similis* (escalas diferentes). A: Lotes 1, 2 e 3 com alta taxa de mortalidade. B: Lote 4 com baixa taxa de mortalidade. Cada ensaio foi feito em duplicata, cada uma representada com A ou B.

A



B



Fonte: Autoria própria

Os valores de CE_{50} para os efluentes são mostrados na Tabela 8. Os lotes 1, 2 e 3 foram extremamente tóxicos como pode ser visto pelos baixos valores de CE_{50} e altos valores de UT.

Tabela 9 - Resultados dos testes de toxicidade aguda avaliado com o microcrustáceo *D. similis* da fração líquida de estrume

Lote	**CE_{50}**	**Limite inferior**	**Limite superior**	**UT**	**Toxicidade segundo Persoone et al. (2003)**
Lote 1	0,545	0,820	1,024	121,95	Toxicidade aguda muito alta
	0,730	0,853	0,950	117,26	
Lote 2	2,796	1,238	4,153	35,769	Toxicidade aguda alta
	2,373	0,615	4,113	42,143	
Lote 3	0,766	0,001	2,208	130,632	Toxicidade aguda muito alta
	0,938	0,402	1,418	106,573	
Lote 4	114*	-	-	0,877	Toxicidade aguda leve
	106*	-	-	0,943	

*Projeções.

Fonte: Autoria própria

Não foram encontrados trabalhos envolvendo a avalição da toxicidade dos efluentes coletados por jateamento obtidos a partir de estrume bovino. A toxicidade pode ter sido causada por algum poluente emergente, como hormônios, fármacos utilizados, defensivos agrícolas, produtos de limpeza, entre outros, usados no local de coleta.

5.4 Adaptação dos reatores

Nesta fase, os reatores foram alimentados com substrato sintético, usando glicose como fonte de carbono, para garantir o desenvolvimento dos consórcios microbianos, antes da alimentação dos reatores com os efluentes.

Durante os primeiros dias, os resultados da adaptação foram impactados por problemas ligados a quedas de energia, dificuldade do controle de temperatura e entupimento das bombas de recirculação e alimentação, que prolongaram essa fase.

A estrutura da pedra-pomes, utilizada como suporte do RALF/PP, foi se desintegrando ao longo do processo, com diminuição do tamanho das partículas. Garcia M. et al. (2008) reportaram perda da estrutura química de pedra-pomes sintética em reatores anaeróbios de bateladas sequenciais. Yuan et al. (2016) determinaram a composição química da pedra-pomes e encontraram teores de Oxigênio de 44,1%, Silício de 24,8%, Alumínio de 9,2%, Ferro de 7,7%, Cálcio de 5,2%, Sódio de 3,5%, Magnésio de 1,5% e Potássio de 1,8%. Esses elementos encontram-se na forma de óxidos, com predominância do óxido de silício (silicato). Adicionalmente, foi reportada que a pedra-pomes apresenta capacidade para adsorver cálcio e magnésio do meio na forma de bicarbonatos (SEPEHR et al., 2013). Os silicatos e os bicarbonatos aumentam a alcalinidade do meio, o que pode explicar o aumento da alcalinidade e do pH no reator ao longo do processo (CONN, 1974).

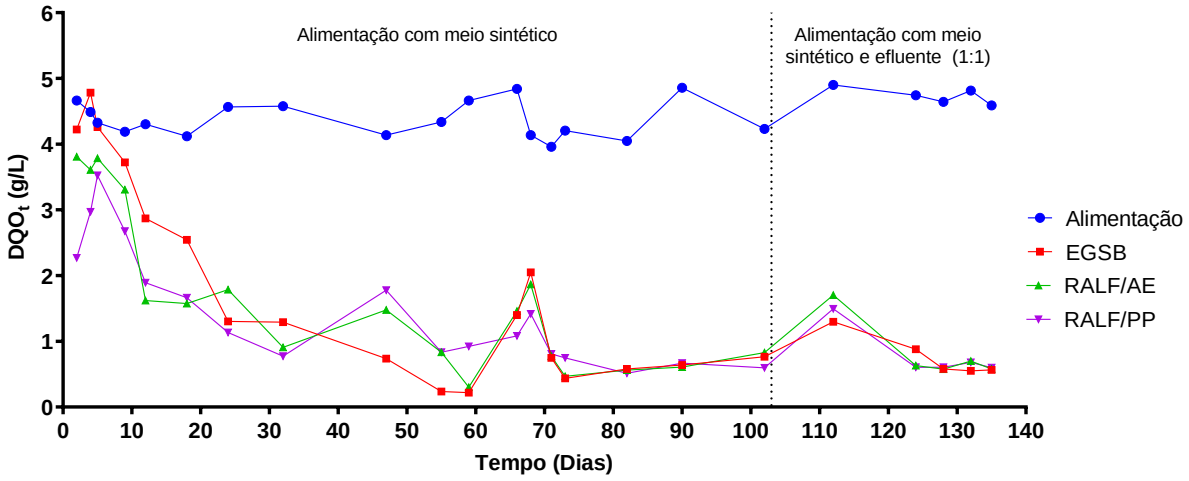
A variação de DQO do efluente na alimentação e nas saídas dos reatores em função do tempo é mostrada na Figura 21. Nos primeiros 103 dias, a DQO da alimentação se manteve entre 4,0 e 4,9 $gDQO.L^{-1}$. Até o 10º dia, houve grande perda de biomassa, refletida nos altos teores de DQO nas saídas dos reatores. Grande parte da biomassa eliminada foi proveniente da biomassa livre nos reatores. Nos primeiros dias, a perda de biomassa for maior no reator EGSB. A partir do 5º dia for observada uma queda acentuada da DQO na saída dos reatores, seguida de estabilização a partir do 22º dia.

Entre o 47º e o 58º dia, as bombas de alimentação deixaram de funcionar e os teores de DQO dos reatores caíram para valores próximos de 0,3 $g.L^{-1}$ para os reatores EGSB e RALF/AE.

Entre o 60º e 70º dia, os valores de DQO aumentaram, indicando que a atividade dos microrganismos foi prejudicada, devido à falta de substrato. Entre o 70º e 100º dia, os reatores mostraram estabilidade e apresentaram teores de DQO entre 0,4 e 0,8 $g.L^{-1}$.

A adição de efluente na alimentação a parte do 103º dia provocou aumento de DQO, cujos valores se estabilizaram a partir do 124º dia (0,5 e 0,8 $g.L^{-1}$).

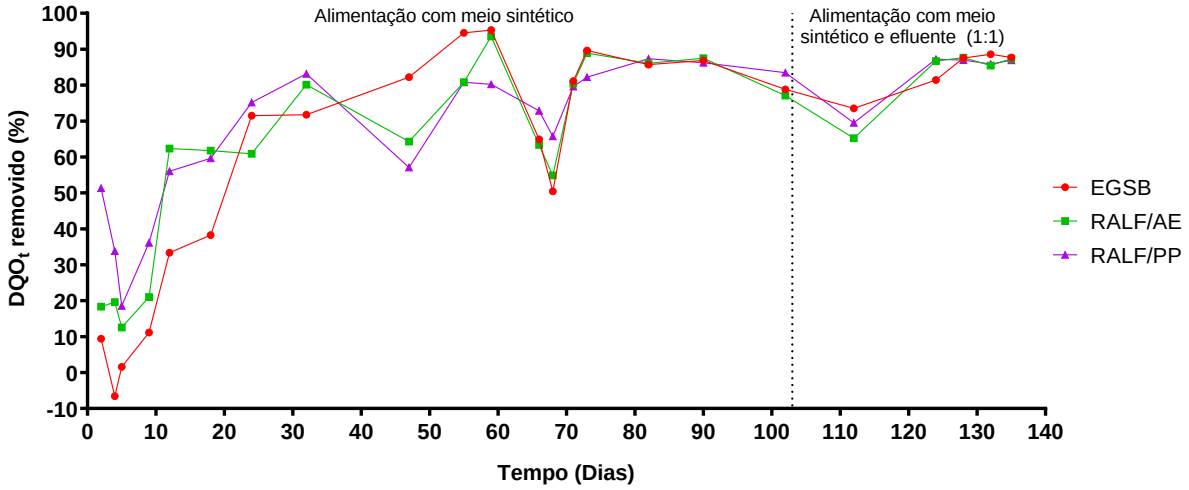
Figura 21 - Variação de DQO na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante a fase de adaptação



Fonte: Autoria própria

A Figura 22 mostra a variação da remoção de DQO nos reatores ao longo da fase de adaptação. Foi observado um aumento gradativo de remoção de DQO desde o início do processo até o dia 32. A partir do 75º dia, a remoção foi próxima de 90%, que se manteve estável após a adição de efluente.

Figura 22 - Variação de DQO removida pelos reatores em função do tempo durante a fase de adaptação

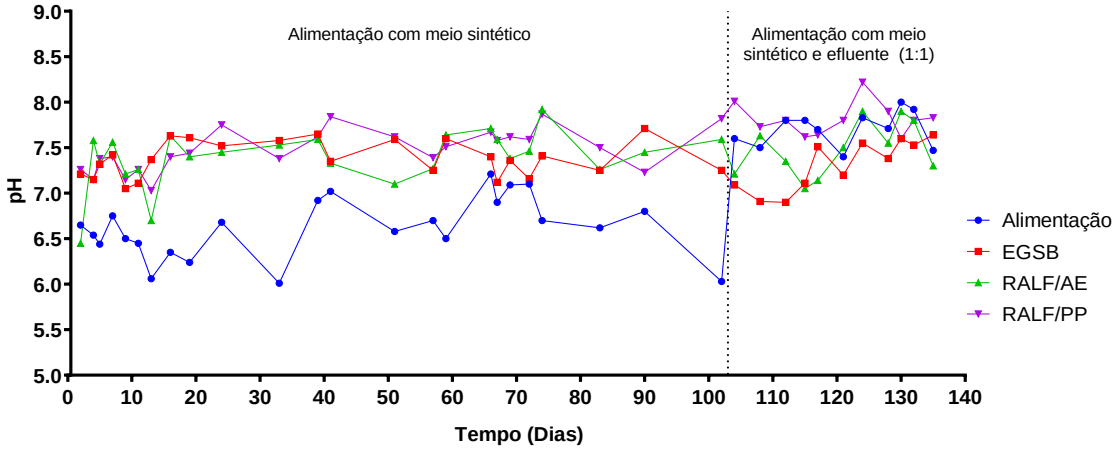


Fonte: Autoria própria

A variação de pH do meio na alimentação e nos reatores durante a fase de adaptação é mostrada na Figura 23. O pH na alimentação variou de 6,0 a 7,2 até o 103º dia, e aumentou para a faixa de 7,4 e 8, após a adição do efluente.

O pH na saída dos reatores manteve-se estável, mesmo depois da alimentação do reator com efluente. O próprio sistema foi responsável por manter o pH estável e não houve necessidade de ajuste em nenhum momento. Além disso, o pH se manteve na faixa adequada para o desenvolvimento e atividade dos microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia (CHERNICHARO, 2007).

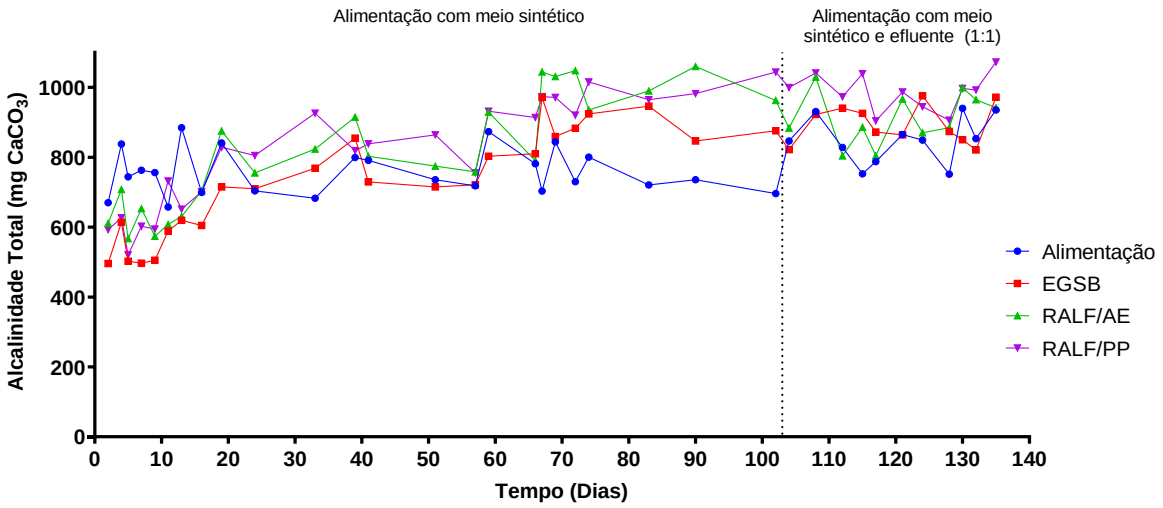
Figura 23 - Variação do pH na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante a fase de adaptação



Fonte: Autoria própria

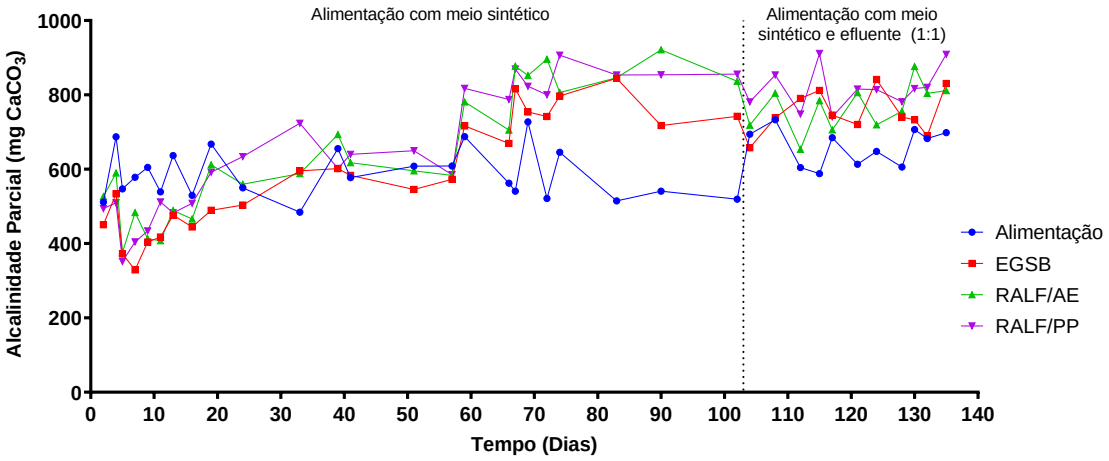
As Figuras 24 e 25 mostram a variação da AT e AP, respectivamente. A AT e a AP da alimentação não sofreram variação durante toda a fase da adaptação. Foi observado apenas um ligeiro aumento da AT e AP. Esse pequeno aumento de alcalinidade foi associado ao maior pH do efluente em relação ao do meio sintético. A AT e AP dos efluentes na saída dos reatores sofrearam ligeiro aumento durante os primeiros 70 dias de adaptação, permanecendo praticamente constantes no período posterior. O aumento da alcalinidade observado pode ser atribuído à formação de compostos durante o processo de degradação anaeróbia (PEREIRA; CAMPOS; MOTTERAN, 2013).

Figura 24 - Variação de AT na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante a fase de adaptação



Fonte: Autoria própria

Figura 25 - Variação da AP na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante a fase de adaptação



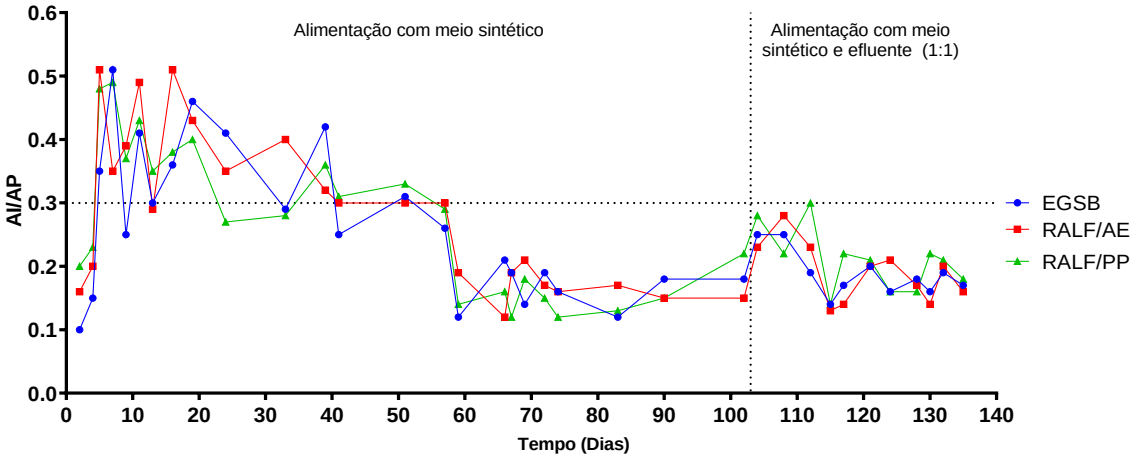
Fonte: Autoria própria

A AI corresponde a diferença entre a AT e a AP, e está associada à alcalinidade dos ácidos voláteis (RIPLEY; BOYLE; CONVERSE, 1986). Na Figura 26, é mostrada a variação de AI/AP dos três reatores durante a fase de adaptação. A razão AI/AP é importante para indicar distúrbios ou instabilidades no processo, pois essa relação aumenta quando os ácidos produzidos na digestão anaeróbia não são consumidos subsequentemente. De acordo com Ripley, Boyle e Converse (1986), os valores de AI/AP maiores a 0,3 refletem

desequilíbrio no processo e instabilidade do consórcio microbiano, devido à quebra do tamponamento do meio dos reatores e queda de pH.

Os resultados obtidos mostraram que a razão AI/AP diminuiu acentuadamente até o 60º dia de adaptação, permanecendo posteriormente constante até a adição do efluente ao meio sintético (103º dia). A adição do efluente causou um ligeiro aumento da razão AI/AP nos primeiros 10 dias após a mistura, voltando a se estabilizar no período posterior. Esses resultados indicam que o processo de adaptação aconteceu como esperado. Durante os primeiros dias e até o 40º dia, os valores de AI/AP dos reatores superaram o valor de 0,3. Isto pode ser explicado pela instabilidade dos reatores nesse período, por problemas já relatados anteriormente. Nesse início de processo houve a produção de ácidos que não foram transformados em metano, consequentemente a razão AI/AP foi elevada. O pH não diminuiu pelo efeito tampão do meio.

Figura 26 - Variação da razão AI/AP das saídas dos reatores em função do tempo durante a fase de adaptação



Fonte: Autoria própria

Apesar dos problemas encontrados no início da fase de adaptação, podemos concluir que os reatores mostraram desempenho satisfatório com remoção de até 90% da DQO, sem mudanças drásticas de alcalinidade e pH. No final da fase de adaptação, os reatores apresentaram valores de AI/AP menores a 0,3, indicando sua estabilidade, e, portanto, foram considerados aptos para o tratamento do efluente obtido a partir da fração líquida do estrume.

5.5 Tratamento do efluente

Após o período de adaptação, a partir do dia 137, foi começada a fase de tratamento do efluente. Esta fase foi subdivida em 5 fases e os reatores foram alimentados apenas com efluente gerado a partir do estrume bovino. A única dificuldade encontrada durante todo o período de tratamento foi a queda de energia por algumas horas no 160º dia, que impediu o funcionamento das bombas e termostatos.

5.5.1 Estabilidade dos reatores

A estabilidade dos reatores foi monitorada continuamente através da determinação de pH, alcalinidade e ácidos voláteis presentas na alimentação e na saída dos reatores.

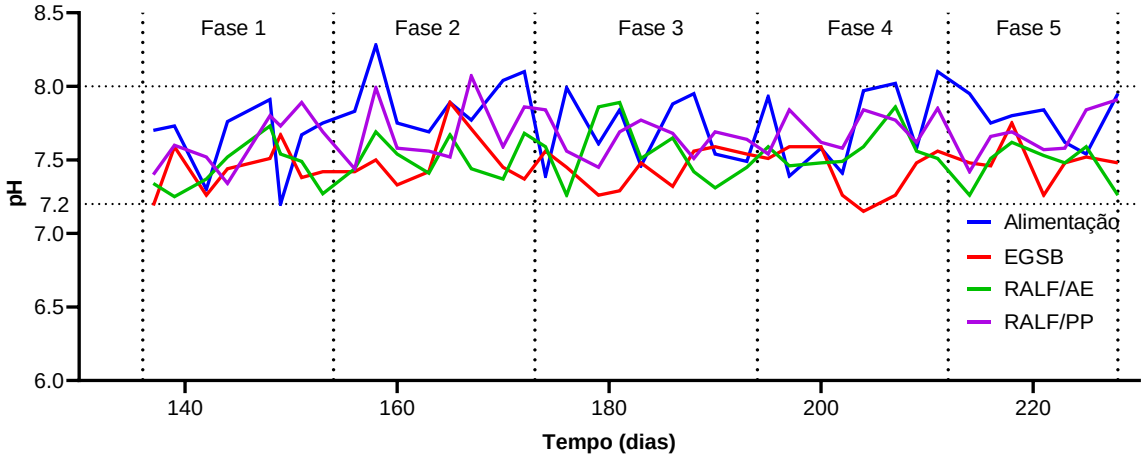
Os valores de pH medidos na saída de cada reator durante as 5 diferentes fases do tratamento são apresentadas na Tabela 9 e a variação de pH na Figura 27. A ANOVA mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa proveniente da interação entre os fatores (i) reatores e (ii) fases (valor p >0,05) (a alimentação não foi incluída na análise estatística), assim não houve efeito conjunto entre as fases e os reatores que tenha afetado o pH (APÊNDICE A – Tabela 30). A análise mostrou que houve diferença dentro dos reatores, o pH do RALF/AP foi estatisticamente superior ao pH dos outros reatores. No entanto, o aumento da COV e a diminuição do TDH não afetaram o pH do meio de nenhum reator, o qual foi encontrado na faixa adequada para o tratamento anaeróbio e produção de metano (VON SPERLING, 2005). Resultados semelhantes foram obtidos por Rico C., Garcia e Rico J. L. (2011) no tratamento anaeróbio da fração líquida de estrume bovino.

Tabela 10 - Valores de pH da alimentação e das saídas dos reatores durante o tratamento do efluente

	Fase 1	**Fase 2**	**Fase 3**	**Fase 4**	**Fase 5**
Alimentação	7,6 ± 0,2	7,9 ± 0,2	7,7 ± 0,2	7,7 ± 0,3	7,8 ± 0,2
EGSB	7,4 ± 0,2	7,5 ± 0,2	7,4 ± 0,1	7,4 ± 0,2	7,5 ± 0,1
RALF/AE	7,4 ± 0,2	7,5 ± 0,1	7,6 ± 0,2	7,6 ± 0,1	7,5 ± 0,1
RALF/PP	7,6 ± 0,2	7,7 ± 0,2	7,6 ± 0,1	7,7 ± 0,1	7,7 ± 0,2

Fonte: Autoria própria

Figura 27 - Variação de pH na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

Os valores de pH observados neste trabalho são similares aos descritos em trabalhos que estudaram reatores anaeróbios para o tratamento da fração líquida de estrume bovino separado mecanicamente (VIDAL, 2015; DIAS, 2017). Valores maiores de pH (8,2 - 8,7) foram obtidos no tratamento anaeróbio da fração líquida separada por floculação, coagulação e peneiramento em reatores UASB e em reatores com agitação contínua (RICO et al., 2011; RICO, C.; GARCIA; RICO, J.L., 2011; RICO, C.; RICO J. L; LASA, 2012). Por outro lado, Umaña et al. (2008) observaram pH entre 6,5 e 6,7 em reatores de leito fixo que tratavam estrume diluído sem separação das frações.

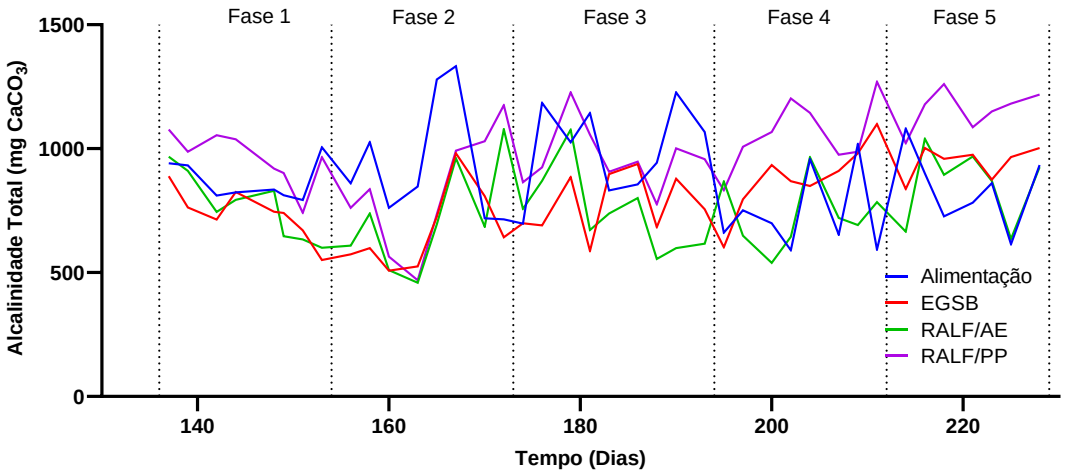
Os valores de AT medidos na alimentação e na saída de cada reator durante as 5 diferentes fases do tratamento são apresentadas na Tabela 10. As suas variações em relação ao tempo e em relação à COV são mostradas nas Figuras 28 e 29, respectivamente.

Tabela 11 - Valores de AT da alimentação e das saídas dos reatores durante o tratamento do efluente

	Fase 1	**Fase 2**	**Fase 3**	**Fase 4**	**Fase 5**
Alimentação	869 ± 78	942 ± 246	997±179	740±162	842±152
EGSB	737 ±101 abA	670±161 aA	779±123 abA	879±145 bcA	945±64 cA
RALF/AE	765 ±134 abA	716±212 aA	742±161 abA	732±136 bcA	857±152 cA
RALF/PP	960 ±109 abB	820±239 aB	962±127 abB	1060±141 bcB	1156±80 cB

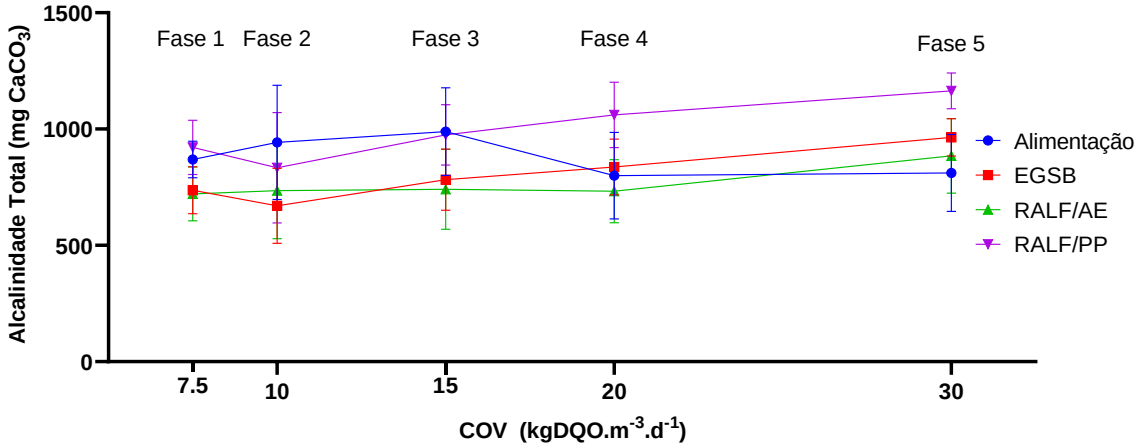
Resultados Teste de Tukey: Letras maiúsculas correspondem às colunas↕ e letras minúsculas às linhas ↔.
Fonte: Autoria própria

Figura 28 - Variação de AT na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

Figura 29 - Variação de AT na alimentação e na saída dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

A ANOVA mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa proveniente da interação entre os fatores (i) reatores e (ii) fases (valor p >0,05) (a alimentação não foi incluída na análise estatística), assim não houve efeito conjunto entre as fases e os reatores que tenha afetado a AT. No entanto, mostrou que houve diferença dentro das fases e dentro dos reatores (APÊNDICE A – Tabela 31). Portanto, foi realizado o teste de comparação de medias de TUKEY (95% nível de confiança) nos dois fatores e os resultados são apresentados na Tabela 10.

Até a queda de energia no 160º dia, foi observada diminuição progressiva das ATs nos reatores, porém, no período posterior foi atingida a estabilidade sem a necessidade de adição de álcali. Aumento estatisticamente significativa da AT, só foi observado a partir da fase 4. O aumento da AT pode ser atribuído à produção de compostos que elevam a alcalinidade (RIPLEY; BOYLE; CONVERSE, 1986).

O teste de Tukey mostrou que COVs superiores a 20 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$ levaram a um aumento da AT em todos os reatores. Foi observado durante todo o período de operação que a AT no RALF/PP foi maior do que a dos outros reatores. Isto pode ser atribuído aos compostos liberados pela desintegração da pedra-pomes, como já discutido essa desintegração leva liberação de silicatos e bicarbonatos (CONN. 1974).

A AT nos reatores foi suficiente para impedir a queda de pH durante todo o processo de tratamento do efluente. A AT geralmente varia em função dos diferentes tipos de reatores usados e efluentes no tratamento anaeróbio. A AT variou entre 500 e 1000 $mgCaCO_3.L^{-1}$ no tratamento de efluentes de uma indústria de têxtis de algodão, em um reator de leito fluidizado (SEM; DEMIRER; 2003). AT de 10000 $mgCaCO_3.L^{-1}$ foram reportados por Umaña et al. (2008), e de 300 $mgCaCO_3.L^{-1}$em reator de leito fluidizado reportados por Chen et al. (2019).

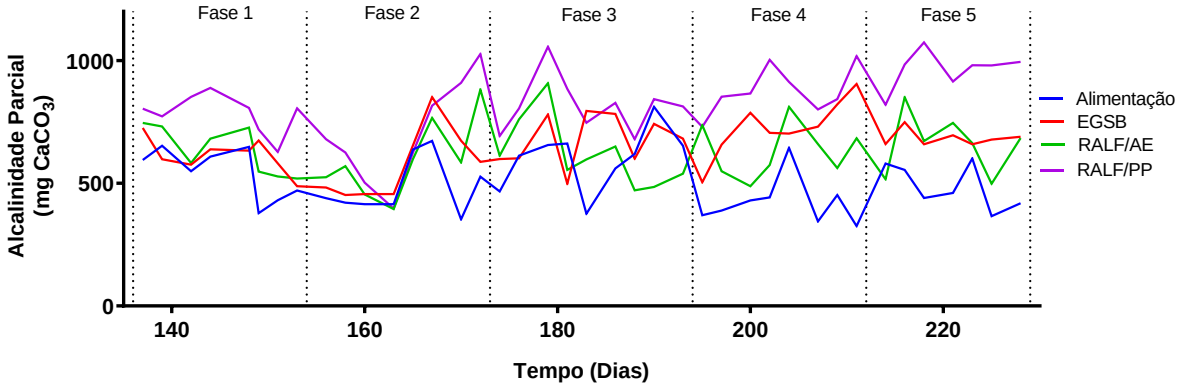
Os valores de AP medidos na alimentação e na saída de cada reator durante as 5 diferentes fases do tratamento são apresentadas na Tabela 11. As suas variações em relação ao tempo e em relação à COV são mostradas nas Figuras 30 e 31, respectivamente. A ANOVA mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa proveniente da interação entre os fatores (i) reatores e (ii) fases (valor $p > 0,05$) (a alimentação não foi incluída na análise estatística), assim não houve efeito conjunto entre as fases e os reatores que tenha afetado a AP. No entanto, mostrou que houve diferença dentro das fases e dentro dos reatores (APÊNDICE A – Tabela 32). Portanto, foi realizado o teste de comparação de medias de TUKEY (95% nível de confiança) nos dois fatores (Tabela 11). Diferenças significativas de AP só foram observadas entre os diferentes reatores após a fase 4, com ênfase para o RALF/PP. Esses resultados seguem a mesma tendência observada para AT discutida anteriormente.

Tabela 12 - Valores de AP da alimentação e da saída dos reatores durante o tratamento do efluente

	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5
Alimentação	541 ± 104	484 ± 116	601 ± 125	424 ± 100	489 ± 90
EGSB	614 ± 71 abA	576 ± 144 aA	675 ± 106 abA	726 ± 119 bA	684 ± 32 bA
RALF/AE	632 ± 98 abA	596 ± 159 aA	619 ± 139 abA	632 ± 108 bA	661 ± 123 bA
RALF/PP	784 ± 81 abB	697 ± 209 aB	816 ± 113 abB	877 ± 97 bB	964 ± 79 bB

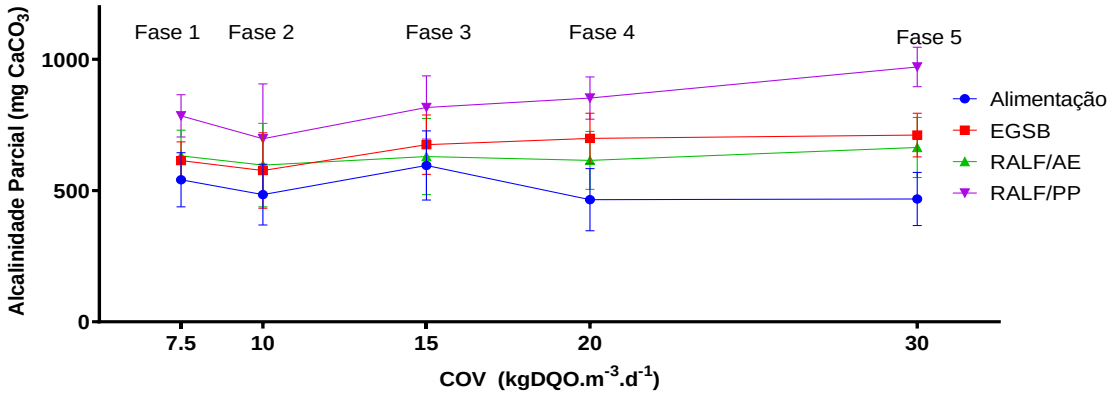
Resultados Teste de Tukey: Letras maiúsculas correspondem às colunas↕ e letras minúsculas às linhas ↔.
Fonte: Autoria própria

Figura 30 - Variação de AP na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

Figura 31 - Variação de AP na alimentação e na saída dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

A análise estadística confirmou que no RALF/PP a AP foi maior do que nos outros reatores. No entanto, não é possível afirmar que o aumento da COV influenciou o aumento da AP (Figura 31), pois esta variação poderia estar influenciada pela desintegração parcial

da pedra-pomes. Por outro lado, é possível afirmar que o aumento da COV não teve impacto negativo na AP dos reatores.

A concentração de AGV está relacionada com a degradação anaeróbia completa. A matéria orgânica é considerada completamente degradada anaerobicamente, quando todos os ácidos formados até a fase da acetogênese são transformados em metano (AQUINO; CHENICHARO, 2005). Concentrações elevadas de AGV no meio indicam que a degradação anaeróbia não está sendo efetiva ou que há instabilidade nas relações sintróficas do consórcio microbiano (AQUINO; CHENICHARO, 2005; MAO et al., 2015). TDHs altos favorecem a completa remoção de ácidos dos reatores (UMAÑA et al., 2008), enquanto TDHs baixas provocam sua acumulação (SEN; DEMIRER, 2003). No entanto, a acumulação de ácidos no reator não necessariamente afeta o seu desempenho, porque podem ser neutralizados pela alcalinidade (RICO, C.; RICO J. L; LASA, 2012).

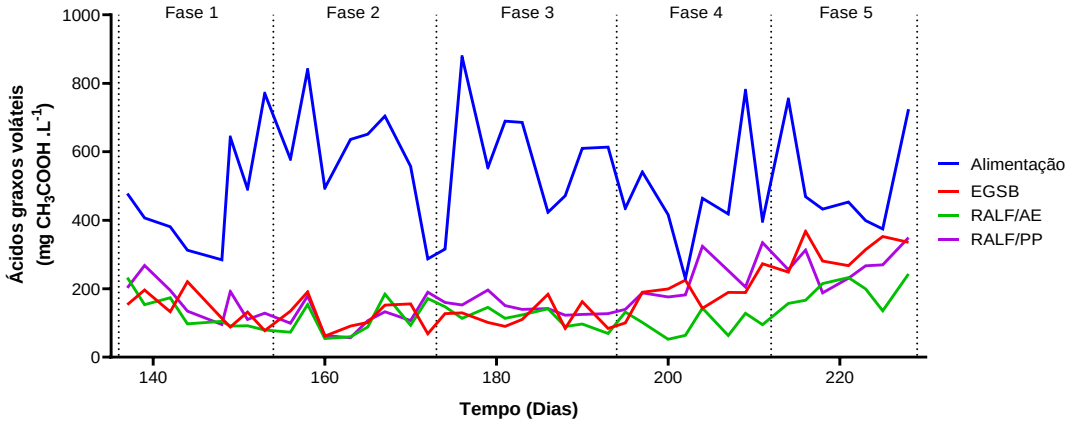
Os valores de AGV medidos na alimentação e na saída de cada reator durante as 5 diferentes fases do tratamento são apresentadas na Tabela 12. As suas variações em relação ao tempo e em relação à COV são mostradas nas Figuras 32 e 33, respectivamente. A ANOVA mostrou que houve diferença estatisticamente significativa proveniente da interação entre os fatores (i) reatores e (ii) fases (valor $p < 0,05$) (a alimentação não foi incluída na análise estatística), assim houve efeito conjunto entre as fases e os reatores que tenha afetado a concentração de AGV (APÊNDICE A – Tabela 33). Portanto, foram analisadas as concentrações de AGV dos reatores dentro das fases e as fases dentro dos reatores (a alimentação não foi incluída na análise) por testes de comparação de medias de Tukey com 95% nível de confiança (Tabela 12).

Tabela 13 - Valores de AGV (mg CH_3COOH .L^{-1}) da alimentação e da saída dos reatores durante o tratamento do efluente

	Fase 1	**Fase 2**	**Fase 3**	**Fase 4**	**Fase 5**
Alimentação	471 ± 166	594 ±162	582 ± 166	460 ± 156	515±156
EGSB	139 ± 50 aA	119 ± 46 aA	119 ± 35 aA	188 ± 51 bA	309±45 cA
RALF/AE	128 ± 54 aA	110 ± 52 aA	116 ± 27 aA	97 ± 35 aB	192±41 bB
RALF/PP	166 ± 58 aA	117 ± 48 bA	146 ± 23 abA	225 ± 72 cA	267±52 dA

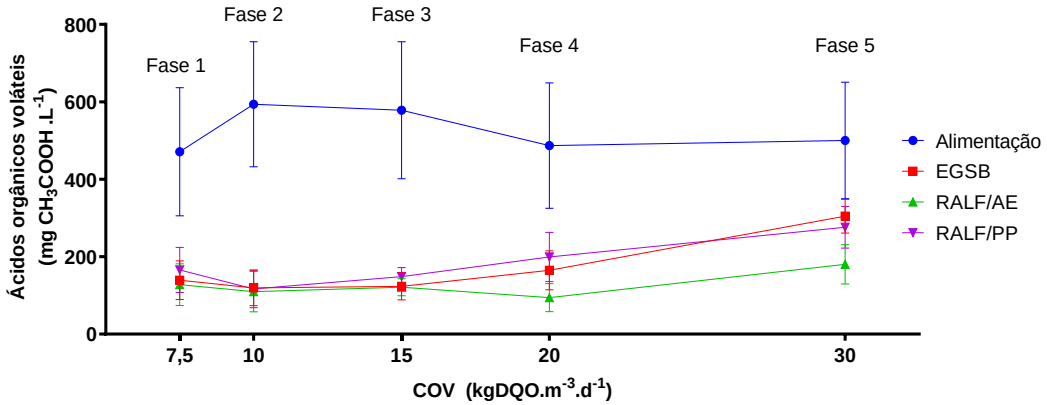
Resultados Testes de Tukey: Letras maiúsculas correspondem às colunas↕ e letras minúsculas às linhas ↔.
Fonte: Autoria própria

Figura 32 - Variação de AGV na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

Figura 33 - Variação de AGV na alimentação e na saída dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

Até a fase 3, as concentrações de AGV foram muito próximas nos três reatores. Diferenças significativas começam a surgir apenas a partir da fase 4 (COV igual ou superior a 20 kgDQO.m^{-3}.d^{-1}), na qual os reatores EGSB e RALF/PP apresentaram valores maiores do que o RALF/AE. Assim, a partir dessa fase, fica evidenciada a menor concentração de AGV no RALF/AE, o que é um indicativo de que as relações sintróficas se mantiveram mais estáveis neste reator do que nos outros. O reator, em particular, suportou maiores cargas orgânicas sem perder a estabilidade do consórcio. Isto acarretou uma maior produção de metano e remoção de DQO, como será mostrado ao longo dessa discussão.

Rico C., Garcia e Rico J.L. (2011) observaram a não acumulação de ácidos no tratamento de efluente semelhante ao deste trabalho em reator UASB, o qual suportou maior

carga orgânica (40 kgDQO.m^{-3}.d^{-1}) do que todos os reatores estudados nessa dissertação (30 kgDQO.m^{-3}.d^{-1}). Esse comportamento pode ser atribuído ao método de separação usado por esses autores (floculação, coagulação e peneiramento) e o tipo de reator.

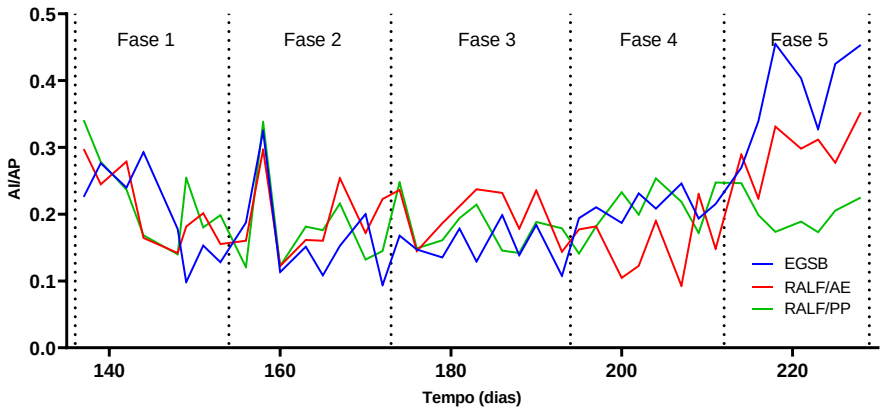
Os valores da relação AI/AP da saída de cada reator durante as 5 diferentes fases do tratamento são apresentadas na Tabela 13. As suas variações em relação ao tempo e em relação à COV são mostradas nas Figuras 34 e 35, respectivamente. Até a fase 4, a razão AI/AP nos três reatores ficou abaixo de 0,30, não requerendo ajuste de alcalinidade. Entretanto, após o início da fase 5, foi observado um aumento dessa relação para o reator EGSB, que foi superior a 0,30 e inferior a 0,45. Os resultados indicam grande estabilidade para todos os reatores até COV de 20 kgDQO.m^{-3}.d^{-1}. A estabilidade do RALF/PP permaneceu constante mesmo com COV de 30 kgDQO.m^{-3}.d^{-1}. Por outro lado, foi observada perda da estabilidade para os reatores EGSB e RALF/AE com COV de 30 kgDQO.m^{-3}.d^{-1} na fase 5. A estabilidade está intimamente ligada à concentração de AGVs e de AP nos reatores. Como a AP variou pouco ao longo de todas as fases, pode se concluir que o acúmulo de ácidos nos reatores EGSB e RALF/AE com COV de 30 kgDQO.m^{-3}.d^{-1} e TDH de 4 h foi responsável pelo aumento da razão AI/AP.

Tabela 14 - Valores de AI/AP dos reatores durante o tratamento do efluente

	Fase 1	**Fase 2**	**Fase 3**	**Fase 4**	**Fase 5**
EGSB	0,20 ± 0,07	0,17 ± 0,07	0,16 ± 0,03	0,20 ± 0,04	0,36 ± 0,09
RALF/AE	0,21 ± 0,06	0,19 ± 0,06	0,21 ± 0,04	0,16 ± 0,05	0,28 ± 0,06
RALF/PP	0,22 ± 0,07	0,18 ± 0,07	0,18 ± 0,04	0,20 ± 0,04	0,21 ± 0,03

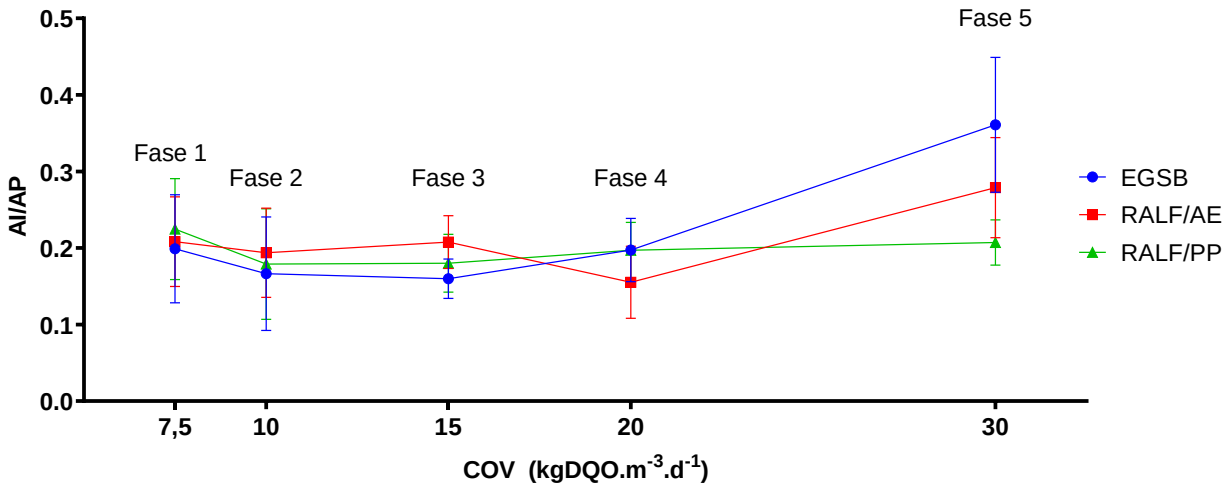
Fonte: Autoria própria

Figura 34 - Variação de AI/AP nas saídas dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

Figura 35 - Variação de AI/AP nas saídas dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

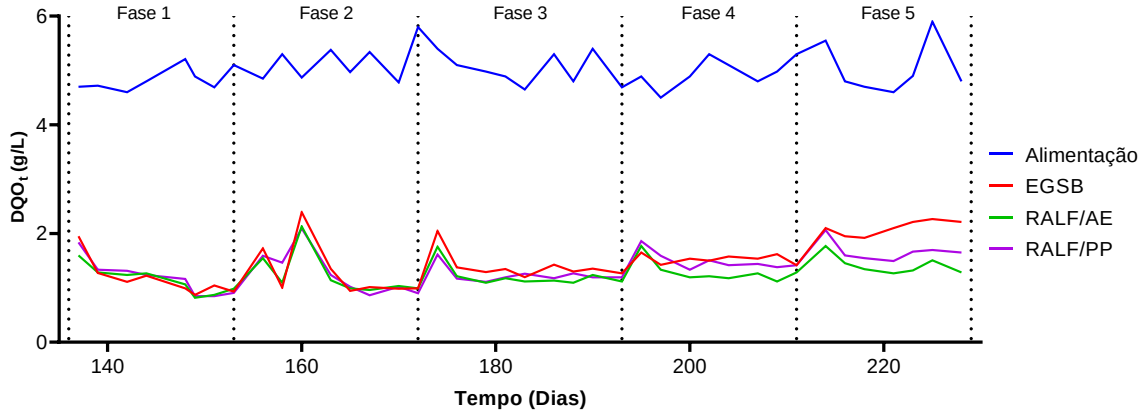
Os valores de AI/AP neste trabalho encontram-se na faixa dos observados em outros trabalhos de tratamento anaeróbio da fração líquida do esterco. Dias (2017) reportou razão AI/AP média de 0,14 em um reator anaeróbio híbrido; Vidal (2015), que a razão AI/AP variou, a maior parte do tempo, entre 0,27 e 0,33 em um reator de leito fixo. Por outro lado, Umaña et al. (2018) verificaram razão de AGV/AT (similar à AI/AP) entre 0,18 e 0,38 e que esse parâmetro aumentou com a diminuição do TDH, pois o teor de ácidos aumentava, assim como visto nos reatores EGSB e RALF/AE.

5.5.2 Remoção da matéria orgânica

A remoção da matéria orgânica foi avaliada mediante a determinação de DQO_t e DQO_d.

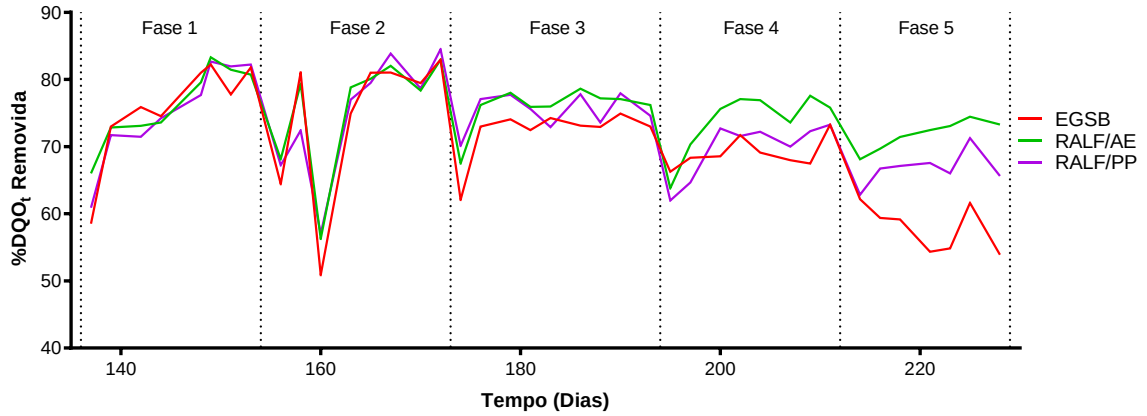
A variação da concentração de DQO_t e a porcentagem da DQO_t removida são mostradas nas Figuras 36 e 37 respectivamente. A concentração de DQO_t do efluente usado para a alimentação dos reatores foi mantida próxima a 5 $gDQO_tL^{-1}$ durante todo o processo. A partir do 135º dia, os reatores foram alimentados com 100% do efluente, o que provocou uma pequena instabilidade no processo, refletida na queda da DQO_t removida nos primeiros 10 dias de tratamento. Posteriormente, os valores de remoção de DQO_t subiram para cerca de 80%. O mesmo fenômeno foi observado sempre no início de cada fase, devido ao aumento súbito de COV. Os reatores recuperaram a estabilidade e atingiram estado estacionário após o período de 5 a 7 dias de operação em cada fase.

Figura 36 - Variação de DQO_t na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

Figura 37 - Variação de DQO_t na alimentação e na saída dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

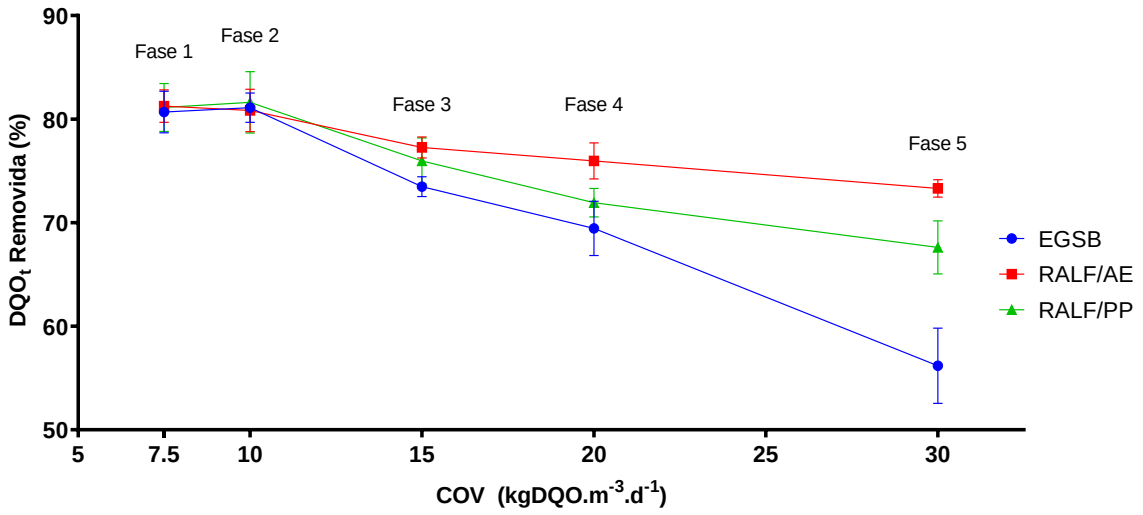
Para o cálculo da eficiência de remoção de DQO_t no estado estacionário, foi determinada a média dos últimos pontos em cada fase. As eficiências de remoção de DQO_t na fase estacionária de cada reator em cada fase são mostrados na Tabela 14 e a variação da remoção em relação à COV está mostrada na Figura 38. Os resultados mostram que a remoção nos estados estacionários em cada fase foi constante. A remoção máxima de DQO_t foi de 81 ± 3%, observada nas fases 1 e 2 com COVs de 7,5 e 10 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$, respectivamente. A ANOVA mostrou que houve diferença significativa proveniente da interação entre os fatores (i) reatores e (ii) fases (valor $p < 0,05$) (APÊNDICE A – Tabela 34). Portanto, foram analisadas as concentrações de DQO_t dos reatores dentro das fases e as fases dentro dos reatores por testes de comparação de medias de Tukey com 95% nível de confiança (Tabela 14).

Tabela 15 - Valores de remoção de DQO_t (%) dos reatores em cada fase durante o tratamento do efluente

	Fase 1		Fase 2		Fase 3		Fase 4		Fase 5	
EGSB	81± 2	aA	81±1	aA	74± 1	bA	69± 3	cA	56± 4	dA
RALF/AE	81± 1	aA	81± 2	aA	77± 1	bB	76± 2	bB	73± 1	cB
RALF/PP	81± 2	aA	82± 3	aA	76± 2	bAB	72± 1	cA	68± 3	dC

Resultados Teste de Tukey: Letras maiúsculas correspondem às colunas↕ e letras minúsculas às linhas ↔.
Fonte: Autoria própria

Figura 38 - Variação de DQO_t nos estados estacionários dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

A partir da fase 3 com COV de 15 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$ foi observada uma queda na remoção de DQO_t para todos os reatores (Figura 38), causada pelo aumento de COV, cujos resultados começam a ser estatisticamente diferentes a partir da COV 20 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$. As quedas de rendimento na remoção de DQO_t entre os diferentes reatores passaram a ser estatisticamente diferentes com COV 20 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$. A partir desse valor de COV, a remoção de DQO do reator EGSB caiu para 56 ± 4% na fase 5. Os melhores resultados foram obtidos no RALF/AE, cuja remoção de DQO foi de 73 ± 1% no final do processo.

Visto que não houve variação na eficiência da fase 1 para a fase 2, pode-se afirmar que nessas fases foi atingida a máxima remoção de DQO_t possível por degradação anaeróbia nesses reatores.

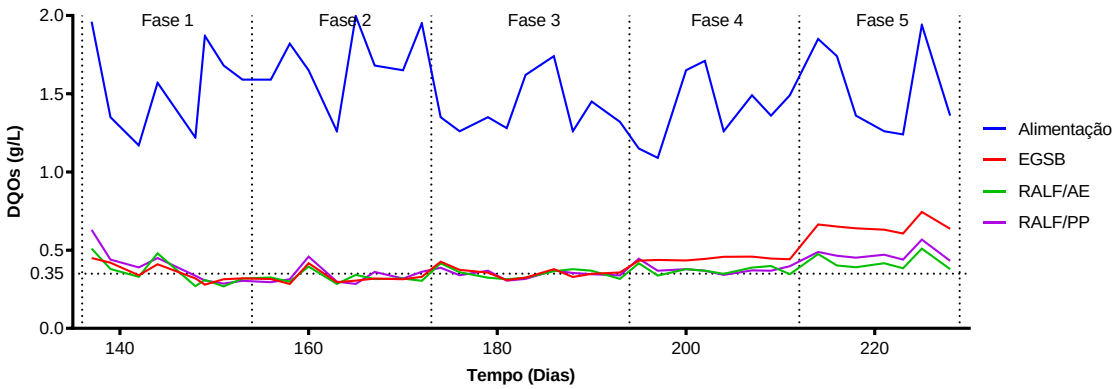
Os resultados mostraram, ainda, que o aumento da COV, forçado pela diminuição do TDH, proporcionou menor contato entre os microrganismos e a matéria orgânica do efluente e, consequentemente, diminui o tempo de reação dificultando a degradação dos compostos presentes no material suspenso.

Os reatores tipo RALFs foram mais eficientes na remoção da matéria orgânica do que o reator EGSB. Os motivos das diferenças encontradas deverão ser estudados posteriormente.

Como visto anteriormente (secção 5.2.2), diferentes tipos de microrganismos aderiram a argila expandida e a pedra-pomes. Se esse fenômeno se manteve durante o tratamento do efluente, ele poderia explicar, em parte, as diferenças de desempenho dos RALFs, uma vez que é conhecido que os suportes influenciam a retenção da biomassa, a estabilidade dos microrganismos e podem favorecer a transformação do substrato (FERNANDEZ et al., 2007; LIU et al., 2017). Foi observado por Umaña et al. (2008), em estudos com reatores de leito fixo, que diferentes suportes influenciam o desempenho dos reatores operados nas mesmas condições, no tratamento de efluentes provenientes de esterco bovino.

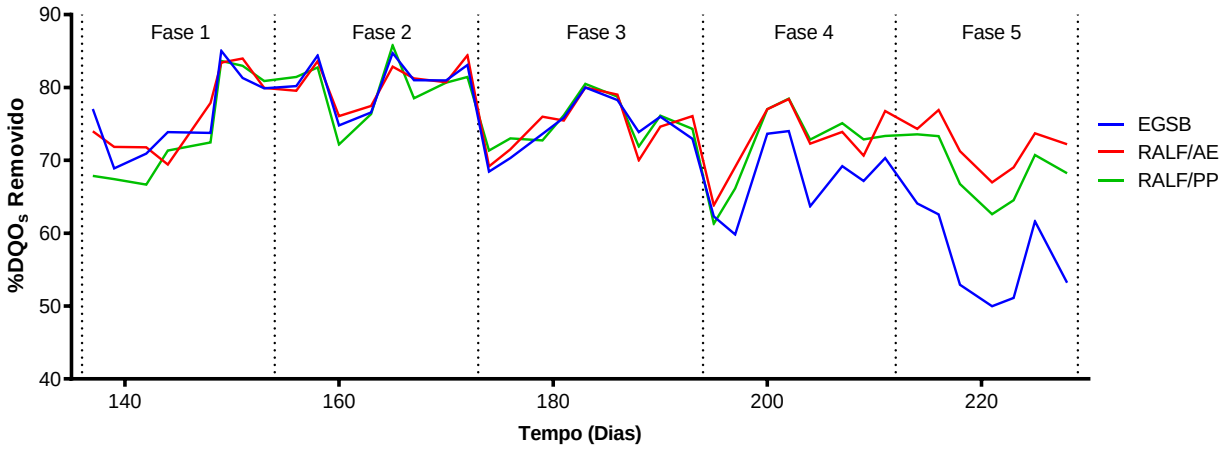
A variação da concentração de DQO_d e a porcentagem da DQO_d removida durante o tratamento do efluente são mostradas nas Figuras 39 e 40, respectivamente. A DQO_d se manteve próxima ao valor médio de 1,5 g L^{-1}. Apesar da grande variação da DQO_d do efluente durante a alimentação, a DQO_d da saída dos reatores permaneceu praticamente constante até a fase 4 (Figura 39). No entanto, na 5º fase foi observada diminuição na remoção de DQO_d em função dos reatores (Figura 39). Como discutido anteriormente para a variação da DQO_t (Figura 36), no início de cada fase, foram observados incrementos nas concentrações de DQO_d.

Figura 39 - Variação de DQO_d na alimentação e na saída dos reatores em função do tempo durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

Figura 40 - Variação de DQO_d na alimentação e na saída dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

Para o cálculo da eficiência de remoção de DQO_d no estado estacionário, foi determinada a média dos últimos 4 pontos em cada fase. Os resultados de cada reator em cada fase são mostrados na Tabela 15 e a variação da remoção de DQO_d em relação à COV está mostrada na Figura 41. A remoção máxima de DQO_d foi de 82 ± 3% nas fases 1 e 2 com COVs de 7,5 e 10 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$, respectivamente. A ANOVA mostrou que houve diferença significativa proveniente da interação entre os fatores (i) reatores e (ii) fases (valor $p < 0,05$) (APÊNDICE A – Tabela 35). Portanto, foram analisadas as concentrações de DQO_d nos reatores nas diferentes fases e as fases nos dos reatores por testes de comparação de medias de Tukey com 95% nível de confiança (Tabela 15).

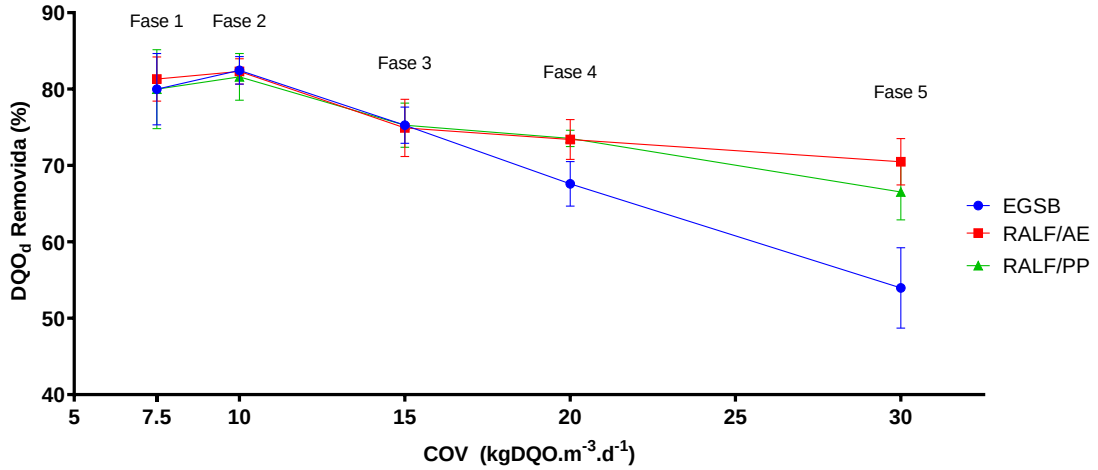
As quedas na eficiência de remoção de DQO_d tiveram comportamento similares às observadas para a remoção de DQO_t. Na fase 3, com COV de 15 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ e TDH de 8 h, foi observada queda da remoção de DQO_d, que foi reduzida a 75 ± 4% (Tabela 15).

Tabela 16 - Valores de remoção de DQOd (%) dos reatores nas fases

	Fase 1	**Fase 2**	**Fase 3**	**Fase 4**	**Fase 5**
EGSB	80 ± 5 abA	82 ± 2 aA	75 ± 2 bA	68± 3 cA	54± 5 dA
RALF/AE	81 ± 3 aA	82 ± 2 aA	75 ± 4 bA	73± 3 bB	70± 3 bB
RALF/PP	80 ± 5 abA	82 ± 3 aA	75 ± 3 bcA	74± 1 cB	67± 4 dB

Resultados Teste de Tukey: Letras maiúsculas correspondem às colunas↕ e letras minúsculas às linhas ↔.
Fonte: Autoria própria

Figura 41 - Variação da remoção de DQO_d dos reatores em função da COV durante o tratamento do efluente



Fonte: Autoria própria

A diminuição do TDH implica em menor tempo de reação nas distintas fases da digestão anaeróbia (hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese), levando à formação de compostos intermediários não consumidos, que provocam a DQO_d no meio. A queda de rendimento na remoção de DQO_d (68 ± 3%) no reator EGSB foi estatisticamente diferente da observada nos RALF/AE (73 ± 3%) e RALF/PP (74 ± 1%) na fase 4 com COV de 20 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$ e TDH de 6 h. O único reator que manteve a eficiência foi o RALF/AE na fase 5 com COV 30 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$ e TDH 4 h, cujo valor de remoção se manteve em 70+3%. A partir deste ponto, o RALF/PP também mostrou queda de eficiência, sendo que esta foi muito mais pronunciada no reator EGSB.

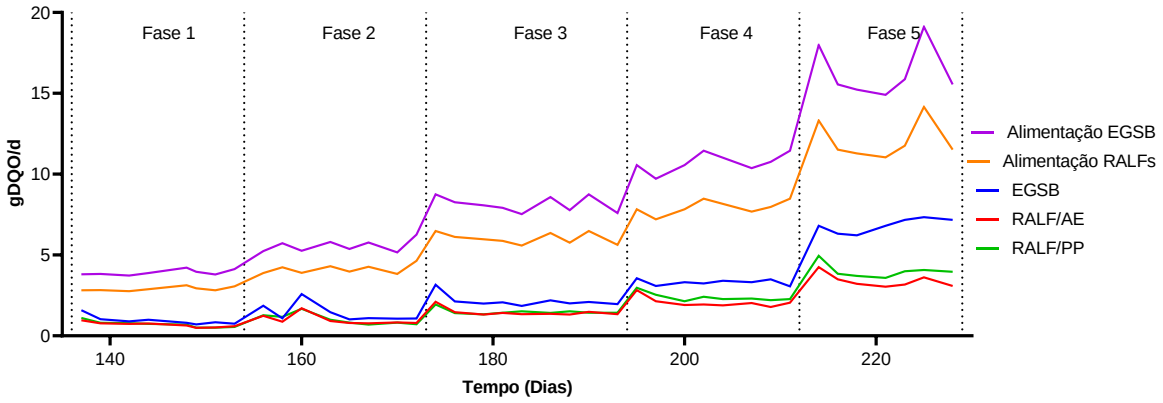
Os RALFs, especialmente o RALF/AE, apresentou desempenho satisfatório na remoção da DQO_d, em todas as fases.

As eficiências de remoção da DQO_t e da DQO_d foram semelhantes para cada reator em todas as fases, o que também foi observado por Garcia H. et al. (2008), Rico C., Garcia e Rico J.L. (2011) e Rico C., Rico J.L. e Lasa (2012) no tratamento da fração líquida de esterco bovino.

A COV padroniza a quantidade de matéria orgânica na alimentação do reator, pois esse parâmetro relaciona a concentração de DQO da alimentação com o TDH e o volume do reator. Neste trabalho, (ver seção de Material e métodos item 4.7) foram usados 3 reatores com a mesma configuração e com o mesmo tamanho, porém, os materiais usados como suporte nos RALFs causaram diminuição do volume útil dos reatores. Portanto, para manter o TDH igual, a vazão de alimentação do EGSB foi maior. Consequentemente, esse reator foi

alimentado com maior volume de efluente e maior quantidade de matéria orgânica. Nesta seção, será discutida a variação da quantidade de matéria orgânica, medida diariamente, reportada como $gDQO_{t}.d^{-1}$, na alimentação e na saída de cada reator durante o tratamento. Os resultados dessa variação ao longo do tratamento do efluente são apresentados na Figura 42.

Figura 42 - Variação de $gDQO.d^{-1}$ nas alimentações e nas saídas dos reatores



Fonte: Autoria própria

Nota-se claramente que a quantidade de DQO de alimentação no reator EGSB foi maior do que a dos RALFs, como foi discutido anteriormente, e que o aumento da COV amplificou as diferenças.

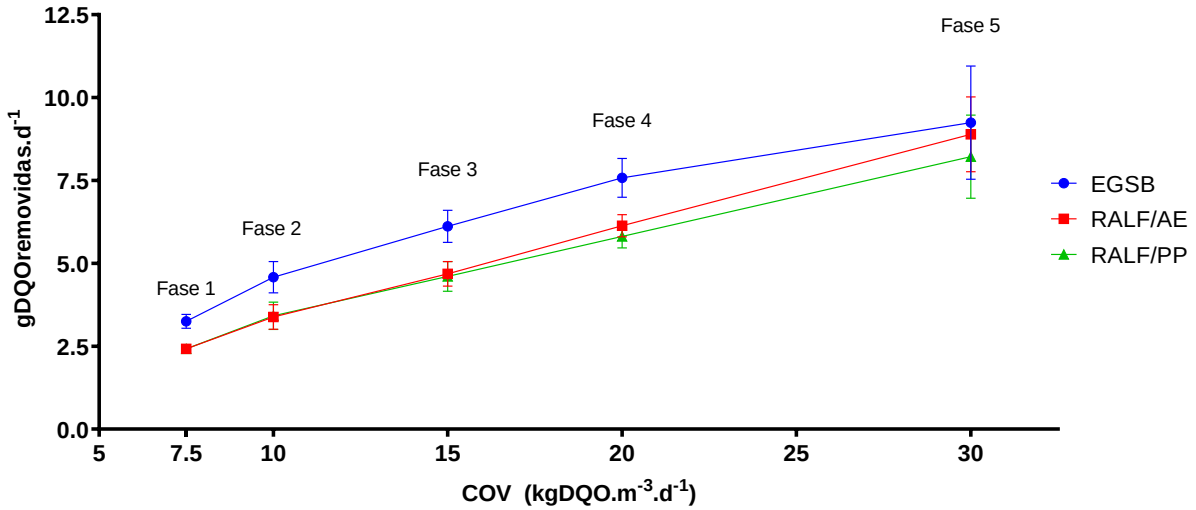
A quantidade de DQO removida no estado estacionário de cada reator em cada fase está mostrada na Tabela 16 e a variação da DQO removida em função do aumento da COV é mostrada na Figura 43. Até a fase 4 com COV de 20 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$, o reator EGSB removeu maior quantidade de matéria orgânica que os outros reatores. Com COV de 30 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$ na fase 5, o reator EGSB perdeu estabilidade e eficiência, com desaceleração na remoção de DQO. Para os RALFs, o aumento da quantidade de DQO removida foi diretamente proporcional ao aumento da COV, cujo aumento foi mais pronunciado para o RALF/AE isto pode ser visto pela diferença do ângulo de inclinação das retas no intervalo de COV entre 10 e 30 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$. A comparação dos valores de remoção de DQO nos três reatores mostrou que não foram estatisticamente diferentes, na fase 5 com COV de 30 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$.

Tabela 17 - Valores de gDQO.d^{-1} removidos pelos reatores nas diversas fases durante o tratamento do efluente

	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5
EGSB	3,2 ± 0,21	4,6 ± 0,5	6,1 ± 0,5	7,6 ± 0,6	9,4 ± 1,7
RALF/AE	2,42 ± 0,09	3,4 ± 0,4	4,7 ± 0,4	6,1 ± 0,3	8,9 ± 1,1
RALF/PP	2,42 ± 0,09	3,4 ± 0,4	4,6 ± 0,5	5,8 ± 0,4	8,2 ± 1,3

Fonte: Autoria própria

Figura 43 - Variação da remoção de gDQO.d^{-1} por cada reator em cada fase em função da COV



Fonte: Autoria própria

A Tabela 17 mostra os resultados da remoção de DQO_t no tratamento anaeróbio da fração líquida do estrume bovino em reatores de alta taxa encontrados por outros autores. A eficiência máxima de remoção de DQO_t encontrada nesses trabalhos ficou entre 80 e 87%, com exceção de Vidal (2015) que superou os 90% em um reator híbrido operado com COV de 10 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$, pois o reator permitiu elevada retenção de microrganismos e sólidos. Ao comparar os resultados obtidos neste trabalho com os resultados mostrados na Tabela 17, pode se concluir que os resultados foram bastante satisfatórios.

Foi constatado que o aumento da COV e diminuição de TDH em determinadas faixas não afetam a eficiência na remoção da matéria orgânica pelos reatores, tal como reportado por Fernandez et al. (2008). A diminuição do TDH sem queda na eficiência é um aspecto positivo, do ponto de vista da produtividade do processo, pois pode ser removida a mesma quantidade de matéria orgânica em períodos mais curtos. No entanto, aumentos muito pronunciados de COVs com diminuições de TDHs podem ter impacto negativo na eficiência da remoção de DQO.

Tabela 18 - Remoção de matéria orgânica com diferentes COVs e TDHs no tratamento anaeróbio de efluentes provenientes de estrume obtida neste trabalho e por outros autores

Reator	**Alimentação**	**Condições de operação**			**Referência**
		COV ($kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$)	TDH (horas)	$\%DQO_t$ removido	
Reator EGSB	Estrume diluído e peneirado	7,5	16,0	81 ± 2	Presente trabalho
		10,0	12,0	81 ± 1	
		15,0	8,0	74 ± 1	
		20,0	6,0	69 ±,3	
		30,0	4,0	56 ± 4	
RALF/AE	Estrume diluído e peneirado	7,5	16,0	81 ± 1	
		10,0	12,0	81 ± 2	
		15,0	8,0	77 ± 1	
		20,0	6,0	76 ± 2	
		30,0	4,0	73 ± 1	
RALF/PP	Estrume diluído e peneirado	7,5	16,0	81 ± 2	
		10,0	12,0	81 ± 3	
		15,0	8,0	76 ± 2	
		20,0	6,0	71 ± 1	
		30,0	4,0	67 ± 3	
Reator de leito fixo com borracha de pneu e zeolito como suportes 22-26C	Estrume bruto diluído sem separação de fases	4,4	132	82,1	Umaña et al. (2008)
		6,0	96	76,9	
		8,0	72	61,54	
		12,0	48	46,2	
		24	24	28,2	
Reator de leito fixo com borracha de pneu como suporte 22-26°C	Estrume bruto diluído sem separação de fases	4,4	132	76,9	
		6,0	96	71,8	
		8,0	72	56,41	
		12,0	48	41	
		24,0	24	23,1	
UASB a 35°C	Fração líquida após floculação e peneiramento	5,0	72	87,1 ± 2,8	Garcia H. et al. (2008)
		8,9	48	84,9 ± 1,4	
		12,7	36	76,5 ± 2,8	
UASB a 35°C	Fração líquida após floculação e peneiramento	12,3	31,2	83,6	Rico C., Garcia e Rico J.L. (2011)
		13,1	24,0	84	
		17,0	17,76	86,5	
		25,9	13,92	79,8	
		28,5	12	72,8	
		40,8	8,4	73,9	
		51,7	6,24	70,4	
		72,5	5,28	57,5	
UASB a 25°C	Fração líquida após floculação e peneiramento	9,17	48,0	81,9	Rico C., Rico J.L. e Lasa (2012)
		12,9	36,0	82,2	
		17,0	30,0	82,3	
		20,7	24,0	81,1	
		26,4	19,2	74,7	
		34,8	15,6	69,7	
Reator anaeróbio híbrido	Diluído e peneirado	~10	24	90	Vidal (2015)

Fonte: Autoria própria

Umaña et al. (2008) trataram estrume diluído sem separação das frações líquida e sólida com remoção de até 82% da DQO_t, mas usaram TDHs muito maiores (5,5 dias) que os usados neste e em outros trabalhos encontrados na literatura (Tabela 17) que separam as frações sólida e líquida. Dessa forma, pode se concluir que a separação das frações líquida e sólida do estrume, realizada no presente trabalho, foi benéfica para o tratamento da fração líquida.

Os três reatores deste trabalho mostraram comportamentos similares ao reator avaliado por Garcia H. et al. (2008) (Tabela 17) que proporcionou máxima eficiência de remoção de DQO até COV de 8,9 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ e TDH de 48 horas em um reator UASB. No entanto, COVs maiores afetaram a eficiência do reator. Neste trabalho, não foi observada queda na eficiência em nenhum reator com COV de até 10 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$. A diferença mais importante entre o presente trabalho e o de Garcia H. et al. (2008) está no isolamento da fração líquida. Esses autores usaram separação físico-química (coagulação, floculação e peneiramento), enquanto neste trabalho foi usada apenas separação mecânica por peneiramento. O uso de compostos químicos nesse processo de separação com certeza leva a um aumento do custo do processo em relação ao adotado neste trabalho.

O rendimento na remoção de matéria orgânica nos RALFs, especialmente do RALF/AE, foi semelhante àqueles obtidos por de Rico C., Garcia e Rico J. L. (2011) e Rico C., Rico J.L. e Lasa (2012) em reatores UASB, cujos valores variaram de 70 a 73% com variação de COV na faixa de 28,5 a 35 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$. Dessa forma, o desempenho do RALF/AE com COV de até 30 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ no tratamento da fração líquida de estrume separada mecanicamente, foi semelhante aos encontrados nos reatores UASB no tratamento da líquida de estrume separada por floculação, coagulação e peneiramento. Rendimentos inferiores de remoção de DQO foram obtidos por Demirer e Chen (2005) em um reator anaeróbio híbrido (48-63%) e por Kalyuzhnyi et al. (1999) em um reator de alta taxa (41,5%).

A comparação dos resultados obtidos para o tratamento da fração líquida do estrume com os da literatura consultada permite concluir que os três reatores estudados apresentaram desempenhos satisfatórios na remoção de matéria orgânica.

A remoção máxima de DQO nos RALFs relatada neste trabalho foi de 81 ± 3 % com COV de 10 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$, resultado similar aos encontrados na literatura com o mesmo tipo de reator. Andalib et al. (2012) usaram um RALF com zeolito como material suporte no

tratamento da fração líquida de vinhaça e conseguiram remoção máxima de DQO de até 88% com COV de 30 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$. Fernandez et al. (2008) observaram remoção de DQO de 80% com COV de 20 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ em RALF com zeolito. Sen e Demirer (2003) constaram remoção máxima de 82% de DQO com COV de 5 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$, no tratamento de efluentes de uma indústria de têxtis de algodão. Sowmeyan e Swaminathan (2008) conseguiram remover entre 80 e 90% de DQO em um RALF com fluxo invertido, alimentado com substrato sintético e operado com COV de 35 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$. Jafari et al. (2013) reportaram remoção de 76,5% com COV de 24 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ no tratamento de efluentes da indústria da groselha.

A comparação dos resultados obtidos no reator EGSB deste trabalho também foram similares aos reportados na literatura para o mesmo tipo de reator. Zhang et al. (2017) relataram remoção de 80% de DQO com COV de 30,5 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ no tratamento de efluentes da indústria de amido; Bialek, Cysneiros e O'Flaherty (2013) superior a 85% da DQO com COV de 2 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ e TDH de 12 horas; Cruz-Salomón et al. (2018) de 98% de matéria orgânica com TDH de 7 dias no tratamento de efluentes do processamento do café, e Li et al. (2014), remoção de até 94% de DQO no tratamento de efluentes da indústria da medicina tradicional chinesa a escala piloto com COV de 10 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$.

5.5.3 Remoção de sólidos

As análises de sólidos foram realizadas apenas quando os reatores atingiram os regimes estacionários em cada fase.

Além da DQO, a determinação da concentração de SV é outra forma de analisar o teor de matéria orgânica no efluente. A quantificação de matéria orgânica por SV pode apresentar valores inferiores aos reais, devido à secagem a 105ºC, com perda, por evaporação, de até 75% dos AGVs (DERIKX; WILLER; TEM HAVE, 1994).

As concentrações de SV de cada reator nas diferentes fases são mostradas na Tabela 18. Não foi observada variação da concentração de SV na alimentação durante o tratamento (Tabela 18). As eficiências de remoção de SV no estado estacionário de cada reator nas diversas fases são mostrados na Tabela 19 e a variação da remoção em relação à COV está mostrada na Figura 44. A ANOVA mostrou que não houve diferença significativa proveniente da interação entre os fatores (i) reatores e (ii) fases (valor $p < 0,10$), no entanto houveram diferenças significativas nas fases e nos reatores (APÊNDICE A – Tabela 36). Assim, foram realizados testes de comparação de médias de Tukey dentro das fases e dos reatores com 90% de nível de significância (Tabela 19)

Tabela 19 - Valores de SV ($g.l^{-1}$) da alimentação e dos reatores nas diversas fases durante no tratamento do efluente

	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5
Alimentação	3,6 ± 0,4	3,8 ± 0,5	3,8 ± 0,17	4,1 ± 0,4	4,0 ± 0,3
EGSB	1,3 ±0,2	1,3 ± 0,2	1,5 ± 0,3	1,9 ± 0,3	2,4 ± 0,2
RALF/AE	1,2 ±0,3	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,2
RALF/PP	1,2 ±0,4	1,2 ± 0,4	1,4 ± 0,3	1,7 ± 0,3	2,0 ± 0,2

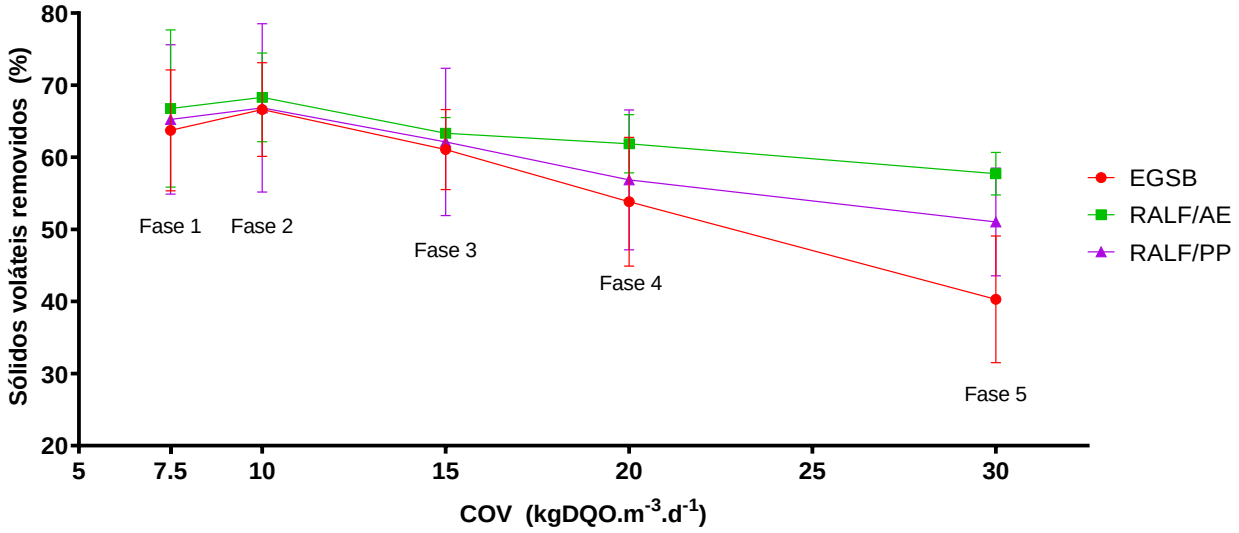
Fonte: Autoria própria

Tabela 20 - Valores de remoção de SV (%) pelos reatores em cada fase

	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5
EGSB	64 ± 8 abA	67 ± 6 aA	61 ± 6 abA	54 ± 9 bcA	40 ± 9 bcA
RALF/AE	67 ± 11 abA	68 ± 6 aA	63 ± 2 abA	62 ± 4 bcA	58 ± 3 bcB
RALF/PP	65 ± 10 abA	67 ± 12 aA	62 ±10 abA	57 ± 10 bcA	51 ± 8 bcAB

Resultados Teste de Tukey: Letras maiúsculas correspondem às colunas↕ e letras minúsculas às linhas ↔.
Fonte: Autoria própria

Figura 44 - Variação da remoção de SV pelos reatores em função da COV



Fonte: Autoria própria

Os resultados mostraram que não houve diferenças estatisticamente significativas durante as primeiras 4 fases do tratamento. Entretanto, na fase 5 (COV 30 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$), ao comparar os resultados obtidos entre os diferentes reatores, foi observado que o RALF/AE foi estatisticamente mais eficiente na remoção de SV do que o reator EGSB. O RALF/AE também foi o reator que apresentou maior estabilidade durante todo o tempo de tratamento do efluente, a remoção de SV deste reator manteve praticamente constante.

Os resultados obtidos são respaldados pelos encontrados na literatura. Umaña et al. (2008) reportaram remoção de até 80% de SV com TDH de 5,5 dias em reatores de leito fixo no tratamento anaeróbio de estrume bovino diluído sem separação de frações.

Garcia et al. (2008) reportaram remoção de SV de 69; 62 e 62% para COVs de 5; 8,9 e 12,7 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ (TDHs de 3; 2 e 1,5 dias), respectivamente em um reator UASB no tratamento da fração líquida do estrume bovino.

Rico C., Garcia e Rico J. L. (2011) reportaram que um reator UASB a 35ºC apresentou remoção de SV de 70% para COV de 12 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ e de entorno de 60% para COVs de 13; 17 e 26 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$. A mínima remoção observada foi de 48% para COV de 72 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$. Rico C., Rico J.L. e Lasa (2012) reportaram que um reator UASB a 25ºC apresentou remoção de 68; 66; 65; 65; 62 e 58% para COVs de 9; 13; 17; 21; 26 e 35 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$, respectivamente. Esses resultados são similares aos observados no RALF/AE que manteve remoção próxima a 60% de SV até a COV de 30 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$.

Os SF representam compostos inorgânicos. No tratamento anaeróbio de efluentes, não é esperada a remoção significativa, muito menos um possível aumento de SF. Os resultados obtidos na determinação das concentrações de SF de cada reator nas diversas são mostrados na Tabela 20 e a variação de SF em função da COV na Figura 45. As concentrações de SF da alimentação não apresentaram muita variação, como esperado. A comparação dos resultados RALF/AE entre as fases 1 e 5, mostrou um pequeno aumento na concentração de SF, que pode ser atribuída à menor uso de nutrientes com o aumento da COV ou uma leve degradação da estrutura da argila expandida.

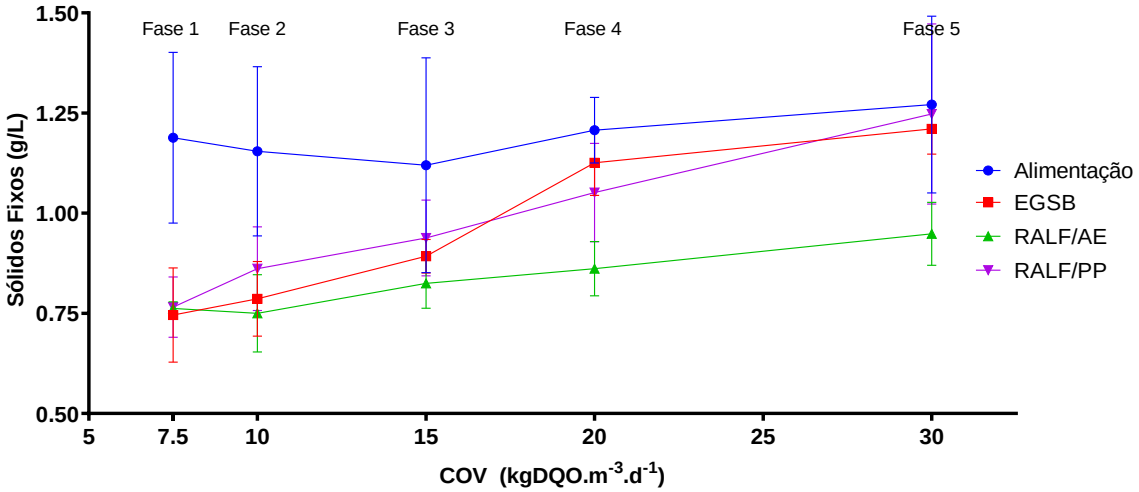
No entanto, foi observado um aumento pronunciado de SF no efluente dos reatores EGSB e RALF/PP. No reator EGSB, foi observada uma grande liberação de SF entre as fases 3 e 4, que não mudou na fase subsequente. Este aumento súbito, pode ser atribuído à liberação de compostos inorgânicos, devido ao aumento da COV que causou desestruturação dos grânulos, liberando compostos inorgânicos incorporados à estrutura dos grânulos durante sua formação (LIU et al., 2002). Consequentemente, isto pode ter provocado a queda de eficiência deste reator. No RALF/PP, foi observada a liberação contínua de SF, na saída do reator, com aumento da COV. Este aumento de SF pode estar relacionado à desintegração da estrutura pedra-pomes, causada, principalmente, pela agitação e forças de cisalhamento dentro do reator ao longo do tempo (LEION; FRICK; HILDOR, 2018).

Tabela 21 - Valores de concentração de SF ($g.l^{-1}$) da alimentação e dos reatores nas diversas fases durante o tratamento do efluente

	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5
Alimentação	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,1 ± 0,3	1,20 ± 0,08	1,3 ± 0,2
EGSB	0,8 ± 0,1	0,79 ± 0,09	0,89 ± 0,04	1,25 ± 0,07	1,21 ± 0,06
RALF/AE	0,76 ± 0,02	0,8 ± 0,1	0,82 ± 0,06	0,86 ± 0,07	0,95 ± 0,08
RALF/PP	0,77 ± 0,08	0,9 ± 0,1	0,94 ± 0,09	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,22

Fonte: Autoria própria

Figura 45 - Variação da concentração de SF ($g.L^{-1}$) na alimentação na saída dos reatores em função da COV



Fonte: Autoria própria

Os sólidos totais representam a somatória dos SF e dos SV. As concentrações de ST nos reatores em cada fase são mostradas na Tabela 21. A concentração de ST da alimentação sofreu pouca variação como esperado. A concentração de ST da saída dos reatores manteve-se em entorno de 2 $g.L^{-1}$ nas duas primeiras fases, e aumentou, posteriormente, com o aumento da COV e diminuição de TDH. A eficiência de remoção de ST no estado estacionária de cada reator em cada fase são mostrados na Tabela 22 e a variação da remoção em relação à COV, na Figura 46. A ANOVA mostrou que não houve diferença significativa proveniente da interação entre os fatores (i) reatores e (ii) fases (valor $p < 0,10$), no entanto houveram diferenças significativas nas fases e nos reatores (APÊNDICE A – Tabela 37). Foram realizados testes de comparação de médias de Tukey dentro das fases e dos reatores com 90% de nível de significância (Tabela 22).

Considerando que o teor de ST é a somatória do teor de SV e SF, e houve maior redução de SV que de SF, a remoção de ST está diretamente associada à do SV. Dessa forma, o comportamento da remoção de ST ao longo das fases e dos reatores foi parecido ao comportamento da remoção de SV.

Tabela 22 - Valores da concentração de ST ($g.l^{-1}$) da alimentação e dos reatores nas diversas fases durante o tratamento do efluente

	Fase 1	**Fase 2**	**Fase 3**	**Fase 4**	**Fase 5**
Alimentação	4,8 ± 0,6	5,0 ± 0,6	5,0 ± 0,2	5,2 ± 0,4	5,3 ± 0,4
EGSB	2,0 ± 0,2	2,0 ± 0,2	2,4 ± 0,3	3,1 ± 0,2	3,6 ± 0,2
RALF/AE	1,9 ± 0,3	1,9 ± 0,2	2,2 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,7 ± 0,3
RALF/PP	2,0 ± 0,4	2,1 ± 0,4	2,4 ± 0,3	2,8 ± 0,2	3,2 ± 0,3

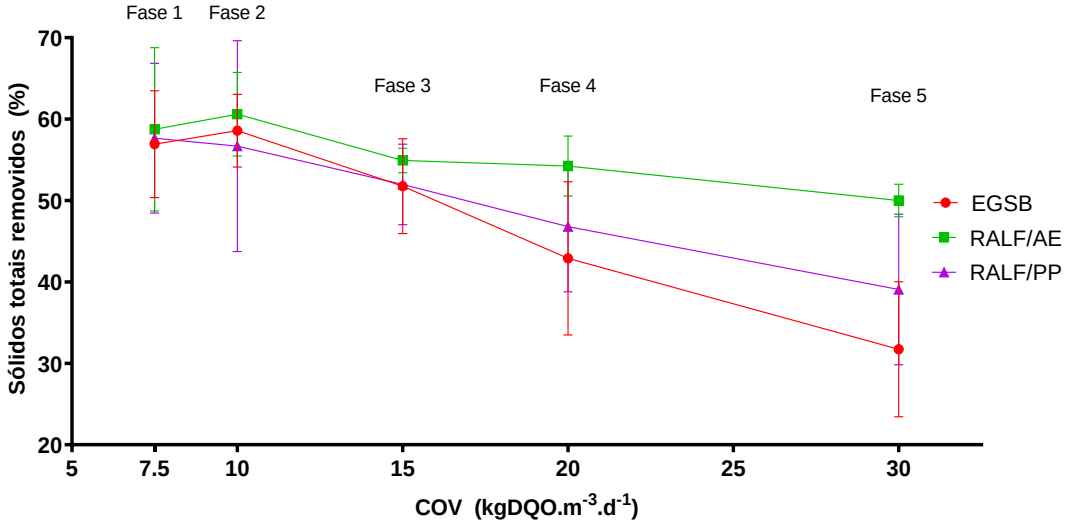
Fonte: Autoria própria

Tabela 23 - Valores de remoção de ST (%) pelos reatores nas diversas fases durante o tratamento do efluente

	Fase 1	**Fase 2**	**Fase 3**	**Fase 4**	**Fase 5**
EGSB	57 ± 6 aA	59 ± 4 aA	52 ± 6 abA	43 ± 9 bcA	32 ± 8 cA
RALF/AE	59 ± 10 aA	61 ± 5 aA	55 ± 2 abA	54 ± 4 bcB	50 ± 2 cB
RALF/PP	58 ± 9 aA	57 ± 13aA	52 ± 5 abA	47 ± 8 bcAB	39 ± 9 cA

Resultados Teste de Tukey: Letras maiúsculas correspondem às colunas↕ e letras minúsculas às linhas ↔.
Fonte: Autoria própria

Figura 46 - Variação da remoção de ST pelos reatores em função da COV



Fonte: Autoria própria

Os resultados mostraram que não houve diferenças estatisticamente significativas durante as 3 primeiras fases. Entretanto, a partir da fase 4, com COVs de 20 e 30 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$, foi observada maior eficiência na remoção de ST no RALF/AE do que no reator EGSB. A eficiência na remoção de ST nesse reator foi a menos afetada pelo aumento da COV e

diminuição de TDH que permaneceu praticamente constante nas fases 3, 4 e 5. O desempenho dos RALFs na remoção de ST é similar aos relatados por Rico C., Garcia e Rico J. L. (2011) e Rico C., Rico J.L. e Lasa (2012) no tratamento da fração líquida de esterco em reatores UASB.

Foram calculadas as quantidades de ST e de SV removidos por dia a partir dos dados obtidos e do volume útil dos reatores. Os resultados são mostrados nas Tabelas 23 e 24, respectivamente. As variações de ST e SV removidos em função da COV são mostrados na Figura 47.

Foi observado que o reator EGSB removeu maior quantidade de ST e SV que os outros reatores até a fase 3 com COV de 15 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$. No entanto, nas fases 4 e 5 com COVs de 20 e 30 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$, os três reatores removeram quantidades similares. Esse comportamento é similar ao observada na quantidade de DQO removida (Figura 43). Dessa forma conclui-se que, o volume útil do reator EGSB proporcionou o tratamento de maior quantidade de sólidos até a COV de 15 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ e que o RALF/AE mostrou desempenho mais estável, apesar do aumento da COV.

Tabela 24 - Valores de remoção de ST ($g.d^{-1}$) pelos reatores nas diversas fases de tratamento do efluente

	Fase 1	**Fase 2**	**Fase 3**	**Fase 4**	**Fase 5**
EGSB	2,2 ± 0,5	3,2 ± 0,6	4,2 ± 0,5	4,9 ± 1,4	5,5 ± 1,7
RALF/AE	1,7 ± 0,5	2,4 ± 0,5	3,3 ± 0,2	4,6 ± 0,6	6,4 ± 0,4
RALF/PP	1,7 ± 0,4	2,3 ± 0,8	3,1 ± 0,3	4,0 ± 0,9	5,0 ± 1,5

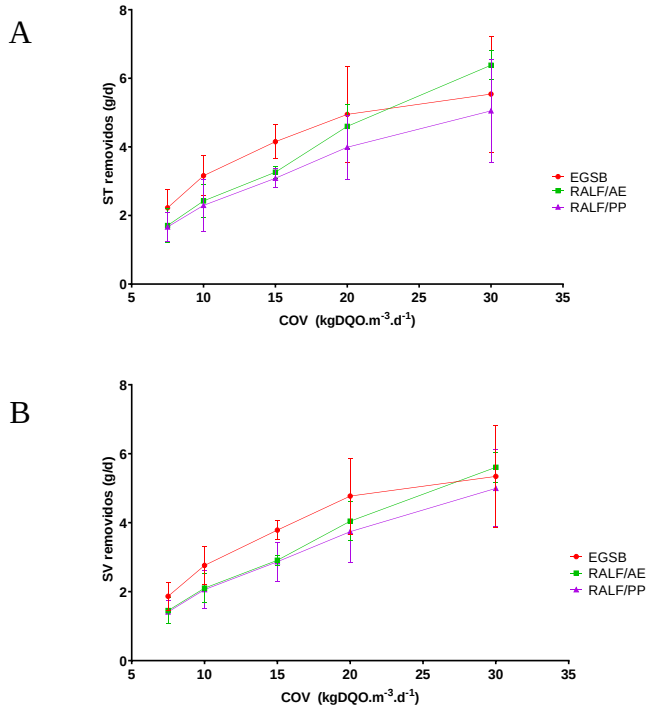
Fonte: Autoria própria

Tabela 25 - Valores de remoção de SV ($g.d^{-1}$) pelos reatores nas diversas fases de tratamento do efluente

	Fase 1	**Fase 2**	**Fase 3**	**Fase 4**	**Fase 5**
EGSB	1,9 ± 0,4	2,8 ± 0,6	3,8 ± 0,3	4,8 ± 1,1	5,3 ± 1,4
RALF/AE	1,5 ± 0,4	2,1 ± 0,4	2,9 ± 0,2	4,0 ± 0,6	5,6 ± 0,4
RALF/PP	1,4 ± 0,3	2,1 ± 0,6	2,9 ± 0,6	3,7 ± 0,9	5,0 ± 1,1

Fonte: Autoria própria

Figura 47 - Variação da remoção da quantidade ST (A) e SV (B) removidos por cada reator em função da COV



Fonte: Autoria própria

5.5.4 Produção de metano

O biogás é o produto final da degradação anaeróbia da matéria orgânica e representa uma grande vantagem do tratamento anaeróbio de efluentes, em relação a processos aeróbios. A produção volumétrica de metano nos reatores foi medida ao longo do tratamento e foi usada para monitorar o processo, conjuntamente à remoção da DQO. Dessa forma, quando a produção de metano se manteve estável, se considerava que o reator tinha atingido o estado estacionário.

A taxa de produção de metano é sensível à temperatura. Entretanto, como a temperatura dos reatores foi mantida entre 33 e 35°C, esse parâmetro não influenciou a produção de metano.

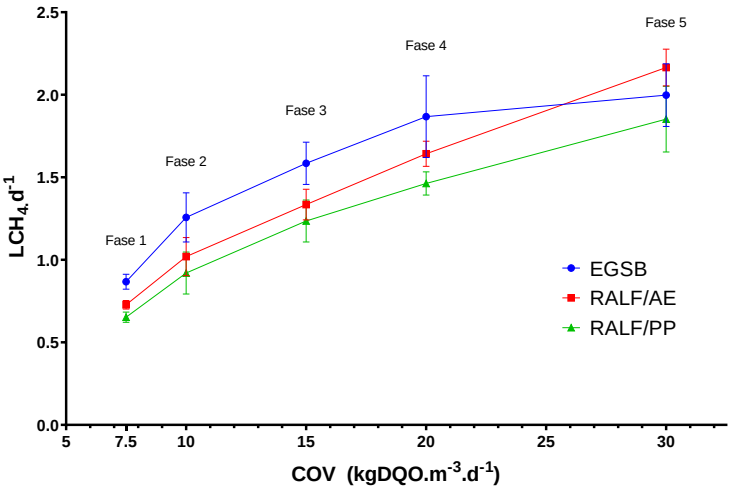
Os dados coletados da medição volumétrica de metano por dia ($LCH_4.d^{-1}$) dos estados estacionárias de cada reator em cada fase são mostrados na Tabela 25 e a variação em função da COV na Figura 48. No reator EGSB foi produzido maior volume de metano por dia que os outros reatores até a fase 4 com COV de 20 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$, isso pode ser explicado pelo maior volume útil do reator. O pior desempenho foi obtido no RALF/PP. Durante todo o processo, a produção de metano do RALF/AE aumentou linearmente com o aumento da COV, o qual superou a produção dos outros reatores com COV 20 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$ na fase 4.

Tabela 26 - Produção volumétrica de metano ($LCH_4.d^{-1}$) dos reatores durante o tratamento do efluente

	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5
EGSB	0,87 ± 0,04	1,3 ± 0,2	1,6 ± 0,1	1,9 ± 0,2	2,0 ± 0,2
RALF/AE	0,73 ± 0,03	1,0 ± 0,1	1,34 ± 0,09	1,64 ± 0,08	2,2 ± 0,1
RALF/PP	0,65 ± 0,03	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,46 ± 0,07	1,8 ± 0,2

Fonte: Autoria própria

Figura 48 - Variação da produção volumétrica de metano para cada reator em função da COV



Fonte: Autoria própria

A produção específica de metano foi calculada em função do volume do reator, de DQO removida ou de SV removidos para efeitos comparativos entre esses reatores e os reportados na literatura.

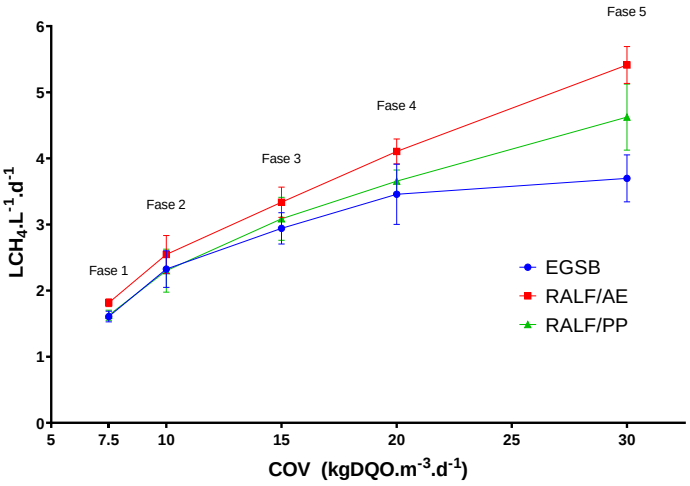
A produção específica de metano em função de volume de reator foi calculada pela divisão do volume de metano produzido pelo volume do reator ($LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$). Os resultados desse parâmetro para cada reator no estado estacionário nas diversas fases são mostrados na Tabela 26 e a variação da produção de metano em função da COV, na Figura 49. A ANOVA mostrou que houve diferença significativa proveniente da interação entre os fatores (i) reatores e (ii) fases (valor $p < 0,05$) (APÊNDICE A – Tabela 38). Por tanto, foram realizados testes de comparação de médias de Tukey dentro de cada fase e cada reator com 95% de nível de significância (Tabela 26).

Tabela 27 - Produção específica de metano em função de volume de reator ($LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$) dos reatores nas diversas fases do tratamento do efluente

	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5
EGSB	1,61 ± 0,08 aA	2,3 ± 0,3 bA	3,0 ± 0,2 cA	3,5 ± 0,5 dA	3,7 ± 0,4 dA
RALF/AE	1,82 ± 0,06 aB	2,6 ± 0,3 bA	3,3 ± 0,2 cA	4,1 ± 0,2 dB	5,4 ± 0,3 eB
RALF/PP	1,63 ± 0,08 aA	2,3 ± 0,4 bA	3,0 ± 0,3 cA	3,7 ± 0,2 dA	4,6 ± 0,5 eC

Resultados Teste de Tukey: Letras maiúsculas correspondem às colunas↕ e letras minúsculas às linhas ↔.
Fonte: Autoria própria

Figura 49 - Variação da produção específica de metano em função do volume do reator para cada reator em função da COV



Fonte: Autoria própria

Na fase 1, com COV de 7,5 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$, o RALF/AE apresentou maior produção de metano que os outros reatores. Nas fases 2 e 3, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas. A partir da fase 4, novamente, o RALF/AE produzir maior volume de metano, cujo máximo (5,4 ± 0,3 $LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$) foi atingido na fase 5. Na fase 5, com COV de 30 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$. Nesta fase, o EGSB teve menor produção de metano (3,7 ± 0,4 $LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$) que os RALFs. Foi observado, também, que a produção de metano aumentou com o aumento da COV em todos os reatores, com exceção do reator EGSB na fase 5.

As diferenças de produção de metano em cada reator podem estar relacionadas à AME do consórcio microbiano (LIU et al., 2017). Foi visto na secção de imobilização em suportes que a AME da biomassa imobilizada em argila expandida (128 ± 13 $mLCH_4.dia^{-1}.gSV^{-1}$) foi maior que a da imobilizada em pedra-pomes (100 ± 14 $mLCH_4.dia^{-1}.gSV^{-1}$). A AME dos grânulos de lodo (84,4 ± 3,8 $mLCH_4.dia^{-1}.gSV^{-1}$) também foi menor que da biomassa imobilizada. No tratamento do efluente, essas diferenças, vistas nos testes da AEM, se mantiveram, mostrando que o RALF/AE tenha maior produção de metano que os outros reatores. Umaña et al. (2008) também observaram que reatores de leito fixo com diferentes suportes de imobilização tiveram diferente produção de metano nas mesmas condições operacionais. Garcia H. et al. (2008) observaram diferente produção de metano

em dois reatores UASB e reportaram, também, que o aumento da COV teve impacto diferente na produção de metano nos dois reatores.

Vários trabalhos que avaliaram a produção específica de metano em reatores anaeróbios alimentados com a fração líquida do estrume, estrume líquido ou estrume diluído e decantado chegaram a produções específicas de metano menores que as observadas neste trabalho. Por exemplo, Dugba e Zhang (1999) obtiveram produção máxima de 0,82 $LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$ no tratamento de estrume bovino peneirado em um reator anaeróbio sequencial de dois estágios (termofílico-mesofílico); Wen et al. (2007), de 0,88 $LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$ na digestão anaeróbia de estrume bovino líquido em um reator de mistura completa; Kalyuzhnyi et al. (1999) de 0,7 $LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$ no tratamento de estrume bovino diluído em um reator UASB; Vidal (2015) de 0,182 $LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$ com COV de 20 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ em um reator de leito fixo; e Dias (2017) produção média de 0,220 $LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$ em um reator anaeróbio híbrido. Os únicos trabalhos encontrados na literatura consultada que obtiveram maior produção específica de metano foram Rico C., Garcia e Rico J. L. (2011) e Rico C., Rico J.L. e Lasa (2012) que reportaram até 10,34 e 8,36 $LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$ com COVs de 41 e 35 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$, respectivamente, em reatores UASB.

Os resultados do reator EGSB para produção de metano específica em função do volume estão de acordo com os resultados da literatura. Fang et al. (2011) reportaram produção volumétrica máxima de 4,0 $LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$ em um reator EGSB com COV de 10 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ de tratamento de efluentes da indústria de óleo de palma e Fang, Boe e Angelidaki (2011) de 1,3 $LCH_4.d^{-1}.L^{-1}$ em um EGSB com COV de 4,2 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$.

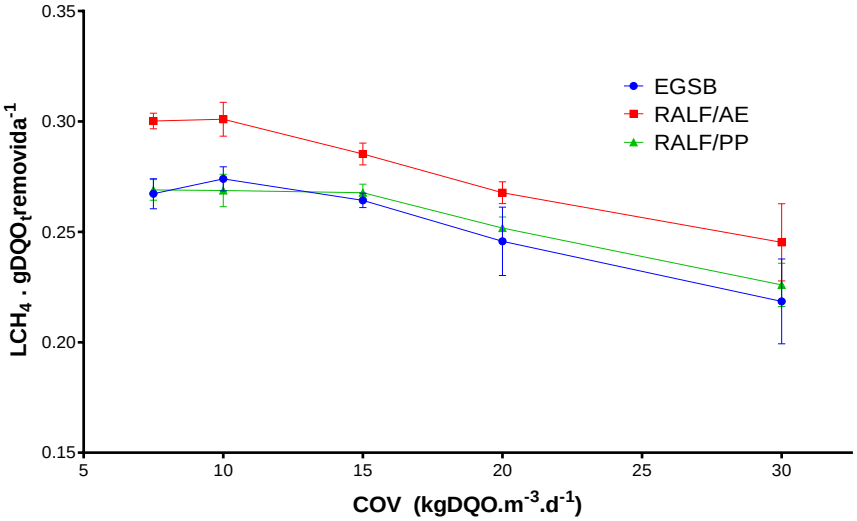
A produção específica de metano em função da DQO removida foi calculada a partir da produção volumétrica de metano dividida pela massa de DQO removida ($LCH_4.gDQO_trem^{-1}$) e os resultados são mostrados na Tabela 27. A variação desse parâmetro em função da COV é mostrada na Figura 50. A ANOVA mostrou que houve diferença significativa proveniente da interação entre os fatores (i) reatores e (ii) fases (valor $p < 0,05$) (APÊNDICE A – Tabela 39). Por tanto, foram realizados testes de comparação de médias de Tukey dentro de cada fase e cada reator com 95% de nível de significância (Tabela 27).

Tabela 28 - Produção específica de metano em termos de DQO removida ($LCH_4.gDQO_t rem^{-1}$) dos reatores nas diversas fases do tratamento do efluente

	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5
EGSB	0,267±0,007aA	0,274±0,006aA	0,264±0,003aA	0,246±0,016bA	0,22±0,02cA
RALF/AE	0,300±0,004aB	0,301±0,008aB	0,288±0,005aB	0,268±0,005bB	0,24±0,02cB
RALF/PP	0,269±0,004aA	0,269±0,006aA	0,268±0,003aA	0,252±0,006bA	0,23±0,01cA

Resultados Teste de Tukey: Letras maiúsculas correspondem às colunas↕ e letras minúsculas às linhas ↔.
Fonte: Autoria própria

Figura 50 - Variação da produção específica de metano em termos de DQO removida para cada reator em função da COV



Fonte: Autoria própria

A comparação de médias entre os reatores mostrou que o RALF/AE teve maior produção específica de metano em função de DQO removida do que os outros reatores, ao longo de todo o processo de tratamento do efluente. Assim, esse reator foi mais eficiente na conversão da matéria orgânica em metano.

O aumento da COV até 15 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$ na fase 3 não teve impacto na produção de metano para nenhum dos reatores. No entanto, COVs maiores (20 e 30 $kgDQO_t.m^{-3}.d^{-1}$), nas fases 4 e 5, provocaram a queda da produção de metano para os três reatores.

Os valores encontrados neste trabalho são similares aos reportados por Rico C., Garcia e Rico J. L. (2011) (0,27-0,28 $LCH_4.gDQO_{t.rem}^{-1}$) e Rico C., Garcia e Rico J. L. (2011) (0,24-0,28 $LCH_4.gDQO_{t.rem}^{-1}$) para reatores UASB. Porém, foram menores que os valores encontrados por Garcia et al. (2008) que observaram taxa de produção de metano de 0,312 $LCH_4.gDQO_t.rem^{-1}$ em um reator UASB a 35ºC.

A produção específica de metano em função da DQO removida nos RALFs foi similar à encontrada na literatura para o mesmo tipo de reator e diferentes efluentes. Andalib et al. (2012) reportaram produção específica de 0,345 $LCH_4.gDQO_{t.rem}^{-1}$ no tratamento da fração líquida de vinhaça; Jafari et al. (2013), entre 0,3 e 0,4 $LCH_4.gDQO_{t.rem}^{-1}$ no tratamento de efluentes da indústria da groselha; Moharram, Abdelhalim e Rozaik (2016), de 0,256 $LCH_4.gDQO_{t.rem}^{-1}$ no tratamento de esgoto doméstico; e Yeshanew et al. (2016) de 0,350 $LCH_4.gDQO_{t.rem}^{-1}$ no tratamento anaeróbio de substrato sintético rico em carboidratos. A partir desses dados, pode-se inferir que os RALFs estudados neste trabalho poderiam ser utilizados eficientemente na produção de metano no tratamento de outros efluentes.

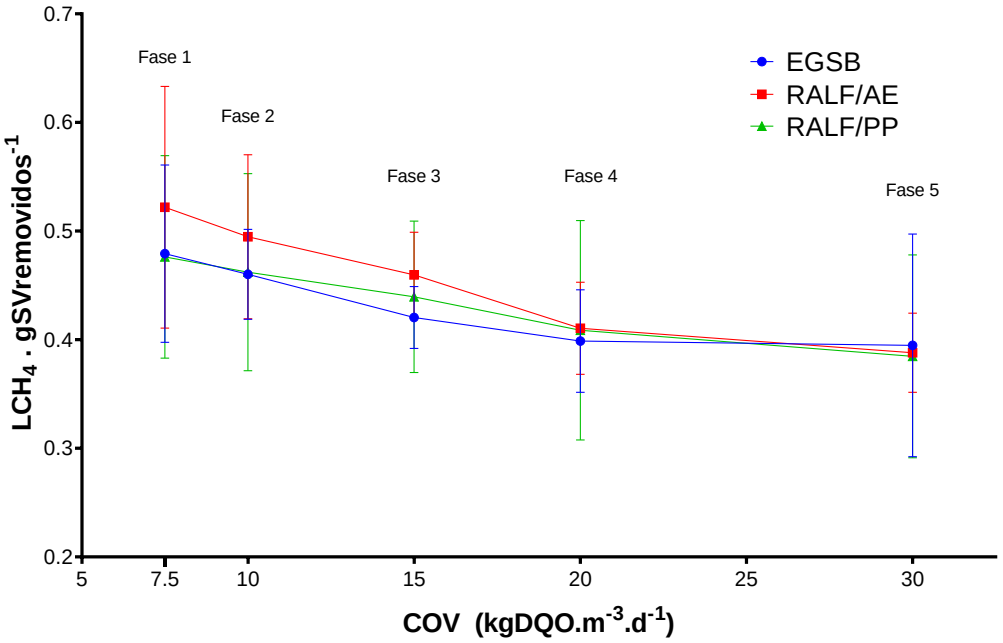
A produção específica de metano em função de SV removidos ($LCH_4.gSV_{rem}^{-1}$) observada em cada reator e em cada fase é mostrada na Tabela 28 e a variação desse parâmetro em função da COV, na Figura 51. Nota-se que os desvios para esse parâmetro são grandes, devido à alta variação dos teores de SV. Isso impossibilitou a realização das análises estatísticas e a obtenção de resultados conclusivos (APÊNDICE A – Tabela 40).

Tabela 29 - Produção específica de metano em termos de SV removidos ($LCH_4.gSV_{rem}^{-1}$) dos reatores nas diversas fases do tratamento do efluente

	Fase 1	**Fase 2**	**Fase 3**	**Fase 4**	**Fase 5**
EGSB	0,48 ± 0,08	0,46 ± 0,04	0,42 ± 0,03	0,40 ± 0,05	0,38 ± 0,10
RALF/AE	0,52 ± 0,11	0,50 ± 0,08	0,46 ± 0,04	0,41 ± 0,04	0,39 ± 0,04
RALF/PP	0,48 ± 0,09	0,46 ± 0,09	0,44 ± 0,07	0,41 ± 0,10	0,38 ± 0,09

Fonte: Autoria própria

Figura 51 - Variação da produção específica de metano em termos de SV removidos para cada reator em cada em função da COV



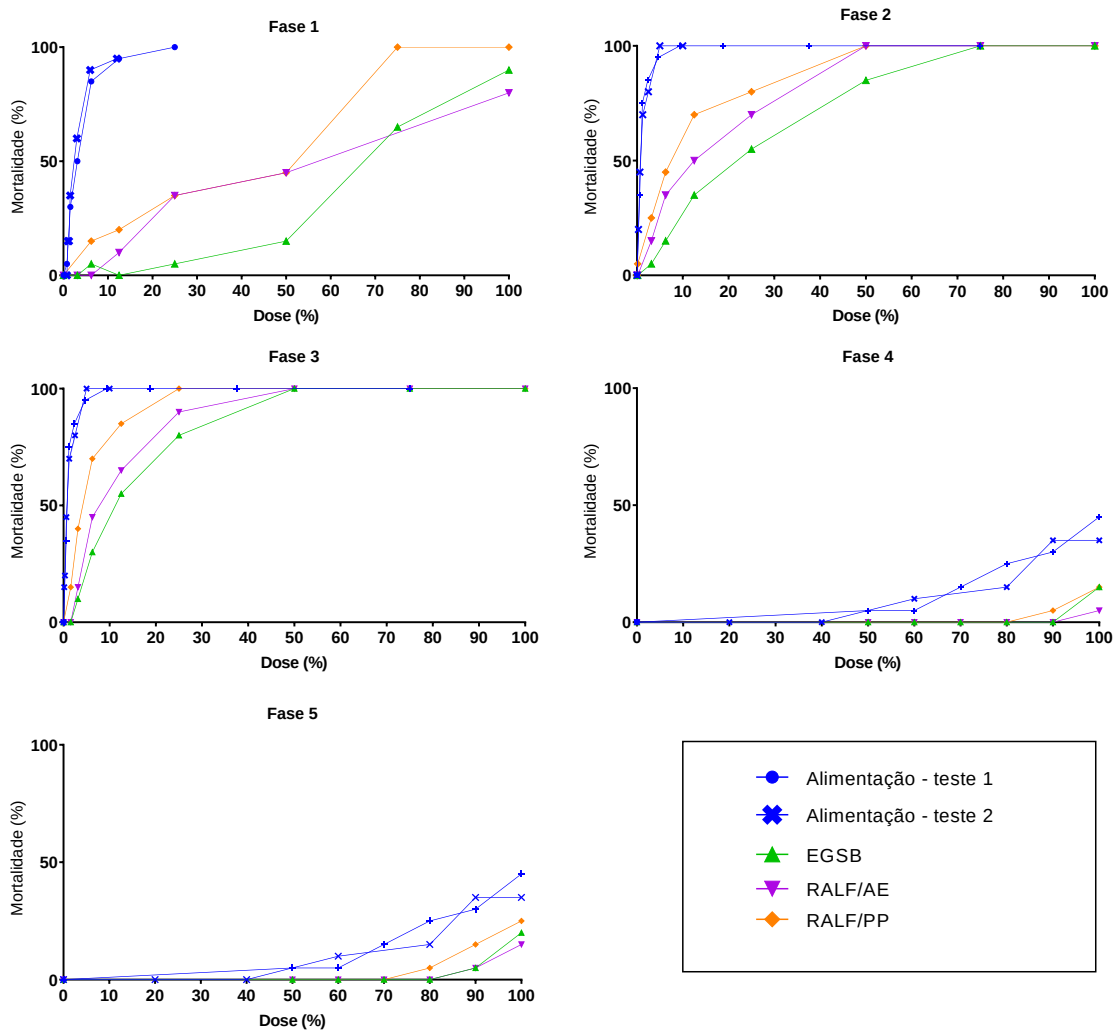
Fonte: Autoria própria

No entanto, os resultados de produção específica de metano em termos de SV encontrados nos três reatores estão com conformidade com os valores da literatura. Rico C., Garcia e Rico J. L. (2011) reportaram produção específica máxima de 0,52 $LCH_4.gSV_{rem}^{-1}$ e mínima de 0,309 $LCH_4.gSV_{rem}^{-1}$ em um reator UASB a 35ºC. Enquanto que, Rico C., Rico J.L. e Lasa (2012), produção máxima de 0,52 $LCH_4.gSV_{rem}^{-1}$ e mínima de 0,43 $LCH_4.gSV_{rem}^{-1}$ em um reator UASB a 25ºC.

5.5.5 Remoção da toxicidade

A toxicidade do efluente utilizado na alimentação e da saída dos reatores foi avaliada a partir de testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis.* A taxa de mortalidade causada pelos efluentes na alimentação e pelas saídas dos reatores em cada fase é mostrada nas Figura 52. Como já discutido anteriormente (seção 5.3), os efluentes obtidos a partir de cada lote de esterco coletado apresentaram toxicidades diferentes. Os efluentes provenientes dos lotes 2 (usados na fase 1) e 3 (usados nas fases 2 e 3) foram altamente tóxicos. Por outro lado, a toxicidade dos do lote 4 (usado nas fases 4 e 5), foi muito mais baixa. Foi observado que, em todas fases, a taxa de mortalidade diminuiu, após tratamento em qualquer dos 3 reatores. Nas 3 primeiras fases, os efluentes do reator EGSB apresentaram menor taxa de mortalidade de *D. similis* do que os efluentes dos outros reatores.

Figura 52 - Mortalidade de *Daphnia similis* nos testes de toxicidade aguda realizados com o efluente na alimentação e nas saídas dos reatores em cada fase



Fonte: Autoria própria

A partir dos resultados de mortalidade, foram calculados os valores de CE_{50} do efluente para cada reator em cada fase e os resultados são mostrados na Tabela 29. Os valores de CE_{50} das fases 4 e 5 não puderam ser calculados, pois a mortalidade dos organismos teste foi menor que 50%. A diferença entre os valores de CE_{50} da alimentação e na saída dos reatores mostrou queda de toxicidade ao longo do processo, nas 3 primeiras fases.

Os valores mais altos de CE_{50} para os três reatores foram observados na fase 1, mas não é possível afirmar que os reatores na fase 1 removeram maior toxicidade que nas outras fases, pois a toxicidade do efluente da alimentação da fase 1 foi menor à do efluente de

alimentação nas outras fases (CE_{50} de 2,58% na fase 1 e CE_{50} de 0,85% nas fases 2 e 3). A comparação dos resultados entre a fase 2 e a fase 3 mostrou que a maior remoção ocorreu na fase 2, cuja queda de remoção pode ser interpretada pelo aumento da COV ou pela diminuição do TDH, conforme ao descrito por Kruglova et al. (2014).

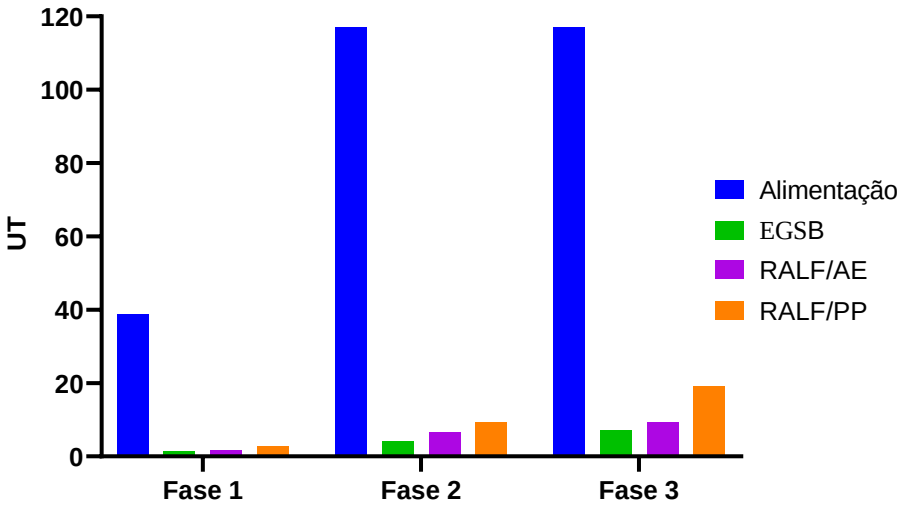
Tabela 30 - Valores de CE_{50} (%) observados na alimentação e nos reatores durante as 3 primeiras fases do tratamento de efluente

	Fase 1		Fase 2		Fase 3	
Alimentação	2,80	[1,24;4,15]	0,77	[0,0;2,21]	0,77	[0,0;2,21]
Alimentação	2,37	[0,62;4,11]	0,94	[0,4;1,42]	0,94	[0,4;1,42]
EGSB	69,78	[59,53;78,51]	24,36	[12,8;34,00]	14,10	[7,3;19,69]
RALF/AE	57,38	[41,11;71,47]	15,41	[4,62;22,96]	10,82	[4,83;15,88]
RALF/PP	34,29	[21,9;43,86]	10,79	[-4.03;19.01]	5,23	[-5.16;9.53]

Fonte: Autoria própria

As UT calculadas a partir dos valores de CE_{50} da Tabela 29 são mostrados na Figura 53. O efluente da alimentação das fases 2 e 3 apresentou 116,96 UT, valor quase 3 vezes maior ao observado na fase 1 (38,7). A alimentação da fase 1 foi classificada como efluente com toxicidade aguda alta, enquanto que a alimentação das fases 2 e 3 como efluente com toxicidade aguda muito alta (PERSOONE et al., 2003).

Figura 53 - Valores de UT observados para a alimentação e para as saídas dos reatores nas 3 primeiras fases



Fonte: Autoria própria

Os reatores EGSB, RALF/AE e RALF/PP apresentaram UTs na fase 1 de 1,4; 1,7 e 2,9, na fase 2 de 4,1; 6,5 e 9,3 e na fase 3 de 7,1; 9,2 e 19,1. Nas duas primeiras fases, todos os efluentes gerados foram classificados como efluentes com Toxicidade aguda leve. Na fase 3, os efluentes dos reatores EGSB e RALF/AE também foram classificados como efluentes com Toxicidade aguda leve, mas o efluente do RALF/PP foi classificado como efluente com Toxicidade aguda. Nessas 3 fases, o reator EGSB mostrou maior remoção da toxicidade que os RALFs.

No entanto, Tigini et al. (2016) e Pivato et al. (2016) determinaram a toxicidade da fração líquida obtida após tratamento anaeróbio da mistura de estrumes bovino e suíno. A CE_{50} determinada por Tigini et al. (2016), em testes de toxicidade com *D. magna* variou entre 1,6 e 3,1%, para amostras com 17,6 g $DQO.L^{-1}$. A toxicidade foi atribuída ao alto teor de amônia e a alta condutividade das amostras, a qual também foi atribuída por Gartiser et al. (2010). A CE_{50} determinada por Pivato et al. (2016) em testes com *D. magna* foi de 13,61% para efluentes contendo amostra contendo 186 $mg.L^{-1}$ de carbono orgânico total. Franchino et al. (2016), usando testes com algas, associaram a toxicidade da fração líquida de esterco suíno tratado anaerobicamente ao alto teor de nitrogênio e fósforo. Entretanto, nenhum desses fatores parece justificar a toxicidade dos efluentes analisados neste trabalho.

A remoção de toxicidade em UT obtidas pelos reatores deste trabalho foi maior do que os encontrados na literatura. Shi et al. (2017) avaliaram o tratamento de efluentes da produção de coque em um reator anaeróbio e reportaram que a toxicidade aguda avaliada com *Daphnia magna* diminuiu de 32,3 a 2,9 UT. Em um estudo similar, Deng et al. (2017) observaram que a toxicidade aguda avaliada com *D. magna* diminuiu de 13,5 a 4,5 UT após tratamento de efluentes da indústria de pigmentos. Por outro lado, Punzi et al. (2015) reportaram que um reator anaeróbio aumentou a toxicidade aguda avaliada com *Artemia salina* (crustáceo) de um efluente da indústria de têxtis.

A remoção da toxicidade observada foi causada pela degradação bioquímica de compostos tóxicos catalisada pelos microrganismos presentes nos reatores (SCULLY; COLLINS; O'FLAHERTY, 2006; SANCINETTI et al., 2012; AMORIM; SADER; SILVA, 2015).

A redução de toxicidade nos reatores pode estar associadas às diferentes populações de microrganismos predominantes em cada tipo de reator, com capacidades diversas para a degradação de compostos tóxicos (DELFORNO et al., 2012, DELFORNO et al., 2014, CENTURION et al., 2018, GRANATTO et al., 2019). Adicionalmente, a adsorção desses compostos pelos grânulos (reator EGSB), pelo biofilme ou pelos suportes usados (RALFs)

também podem ter contribuído para a redução. Wang et al. (2019) estudaram o tratamento de efluentes de chiqueiro com lodo granular aeróbio. Reportaram que os grânulos tiveram bom desempenho na biossorção e biodegradação de antibióticos. A degradação e adsorção desses antibióticos pela matriz polimérica foi de 63% e 32%, respectivamente. Ochoa-Herrera e Sierra Alvarez (2008) reportaram que lodo granular anaeróbio obtido de uma estação de tratamento de efluentes industriais teve capacidade de adsorção de surfactantes aniônicos tóxicos. Kennedy, Lu e Mohn (1992) e Gao e Wang (2007) reportaram que grânulos anaeróbios são capazes da biossorção de clorofenois. Ferreira et al. (2016) reportaram que lodo granular aeróbio teve alta capacidade de biossorção de fluoroquinolonas (antibióticos). A remoção de compostos tóxicos por adsorção a suportes em RALFs é uma maneira de remover poluentes recalcitrantes de efluentes (BELLO; RAMAN; PURUSHOTHAMAN, 2017). Mailler et al. (2016) reportaram remoção superior a 80% de uma grande variedade de micropoluentes (hormônios e fármacos) em um RALF com carvão ativado granular como suporte. Kumar et al. (2019) observaram que um RALF com biofilmes heterogêneos imobilizados em *K1-Kaldness* apresentou maior remoção de microcistina-LR (<90%) que um RALF com os mesmos suportes sem biomassa imobilizada. Os RALFs também têm mostrado bom desempenho na adsorção de metais, tais como manganês, cromo, cobre, níquel e zinco (STYLIANOU; INGLEZAKIS; LOIZIDOU, 2014; JANYASUTHIWONG et al., 2015; WU et al, 2018).

Contudo, para o melhor entendimento da remoção da toxicidade pelos reatores, seria importante a caracterização química aprofundada dos compostos presentes no efluente.

6 CONCLUSÕES

A espuma de poliuretano foi o suporte que proporcionou maior adesão de biomassa, devido a sua alta área superficial específica, seguido da pedra-pomes, argila expandida e cerâmica, por apresentarem grande porosidade e superfície irregular. Os suportes com menor adesão foram o basalto e a areia de quartzo, materiais pouco porosos e com superfície lisa.

Os microrganismos aderidos à argila expandida exibiram maior AME. Apesar da espuma ter permitido maior adesão de biomassa, os microrganismos aderidos apresentaram AME intermediária, muito próxima da obtida a partir dos microrganismos aderidos a todos os outros suportes. A imobilização de biomassa em todos os suportes promoveu aumento na AME, em relação à do lodo livre.

A argila expandida e a pedra-pomes foram os suportes escolhidos para o tratamento de efluentes nos RALFs, por permitir a adesão de microrganismos com boa AME. A espuma não foi escolhida, pois sua utilização em reatores de leito fluidizado demandaria fluidização com fluxo inverso.

Os efluentes obtidos pela diluição e peneiramento de cada lote coletado apresentaram toxicidade aguda com *D. similis*, provavelmente causada pela presença sazonal de poluentes emergentes, oriundos de produtos químicos aplicados na fazenda.

Os reatores estudados neste trabalho apresentaram resultados promissores para estabilidade remoção de matéria orgânica e produção de metano no tratamento anaeróbio da fração líquida do estrume bovino separada por peneiramento.

A remoção de DQO (81 ± 3%) e de SV (67 ± 10%), foi maior nas duas primeiras fases do tratamento, com COVs de 7,5 e 10 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$ e TDHs de 16 e 12 h, independentemente dos reatores. Houve queda de desempenhos dos reatores com o aumento da COV. A maior queda ocorreu no reator EGSB e a menor no RALF/AE.

A maior produção específica de metano foi observada no RALF/AE.

O reator EGSB, com volume útil maior ao dos RALFs, teve maior capacidade de remoção de quantidade de DQO e maior produção volumétrica de metano que os outros reatores até a fase 3, com COV de 15 $kgDQO.m^{-3}.d^{-1}$. A partir da fase 4, o desempenho do RALF/AE superou todos os outros.

A toxicidade aguda avaliada por testes com *D. similis* diminuiu após tratamento anaeróbio do efluente nos três reatores. A maior remoção ocorreu no reator EGSB.

REFERÊNCIAS

ABBASI T., TAUSEEF S.M., ABBASI S.A. A Brief History of Anaerobic Digestion and "Biogas". In: ABBASI T., TAUSEEF S.M., ABBASI S.A. **Biogas Energy**. New York: Springer, 2012. p 11-23.

ABIEC. **Publicações. Beef Report**. Disponível em: http://www.abiec.com.br/Sumario2019.aspx. Acesso em: 12 de jun. 2019.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12713.** Água – Ensaio de Toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2011.

ADEKUNLE, Kayode Feyisetan; OKOLIE, Jude Awele. A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 6, n. 3, p.205-212, 2015.

ADU-GYAMFI, Nicholas; RAVELLA, Sreenivas Rao; HOBBS, Phil J. Optimizing anaerobic digestion by selection of the immobilizing surface for enhanced methane production. **Bioresource Technology**, v. 120, p.248-255, set. 2012.

AHAMMAD, Shaikh Ziauddin et al. Rational immobilization of methanogens in high cell density bioreactors. **RSC Advances**, v. 3, n. 3, p. 774-781, 2013.

ALPHENAAR, P. Arne; VISSER, André; LETTINGA, Gatze. The effect of liquid upward velocity and hydraulic retention time on granulation in UASB reactors treating wastewater with a high sulphate content. **Bioresource Technology**, v. 43, n. 3, p.249-258, jan. 1993.

AMMARY, Bashaar Y. Nutrients requirements in biological industrial wastewater treatment. **African Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 236-238, 2004.

AMORIM, Eduardo Lucena Cavalcante de; SADER, Leandro Takano; SILVA, Edson Luiz. Effects of the Organic-Loading Rate on the Performance of an Anaerobic Fluidized-Bed Reactor Treating Synthetic Wastewater Containing Phenol. **Journal of Environmental Engineering**, v. 141, n. 10, p.04015022-040150229, out. 2015.

ANDALIB, Mehran et al. Performance of an anaerobic fluidized bed bioreactor (AnFBR) for digestion of primary municipal wastewater treatment biosolids and bioethanol thin stillage. **Renewable Energy**, v. 71, p.276-285, nov. 2014.

ANDALIB, Mehran et al. Treatment of thin stillage in a high-rate anaerobic fluidized bed bioreactor (AFBR). **Bioresource Technology**, v. 121, p.411-418, out. 2012.

ANDALIB, Mehran; NAKHLA, George; ZHU, Jesse. High rate biological nutrient removal from high strength wastewater using anaerobic-circulating fluidized bed bioreactor (A-CFBBR). **Bioresource Technology**, v. 118, p.526-535, ago. 2012.

ANDRADE, Marcus et al. Effects of hydraulic retention time, co-substrate and nitrogen source on laundry wastewater anionic surfactant degradation in fluidized bed reactors. **Bioresource Technology**, v. 224, p.246-254, jan. 2017.

ANTONIO-CARMONA, Iveth D. et al. Semiconducting polyurethane/polypyrrole/polyaniline for microorganism immobilization and wastewater treatment in anaerobic/aerobic sequential packed bed reactors. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 28, p.1-10, 10 abr. 2015.

APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington: Water Environment Federation. 2005.

AQUINO, Sérgio F. de; CHERNICHARO, Carlos A. L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 10, n. 2, p.152-161, jun. 2005.

AQUINO, Sérgio F. et al. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 12, n. 2, p.192-201, jun. 2007.

ARAUJO, M.; ZAIAT, M.. An upflow fixed-bed anaerobic–aerobic reactor for removal of organic matter and nitrogen from L-lysine plant wastewaterA paper submitted to the Journal of Environmental Engineering and Science. **Canadian Journal of Civil Engineering**, v. 36, n. 6, p.1085-1094, jun. 2009.

BASILE, Maria Assunta et al. The effect of the surface charge of hydrogel supports on thermophilic biohydrogen production. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 12, p.4386-4394, jun. 2010.

BASITERE, M. et al. Performance of an expanded granular sludge bed (EGSB) reactor coupled with anoxic and aerobic bioreactors for treating poultry slaughterhouse wastewater. **Water Practice and Technology**, v. 11, n. 1, p.86-92, mar. 2016.

BELLO, Mustapha Mohammed; RAMAN, Abdul Aziz Abdul; PURUSHOTHAMAN, Monash. Applications of fluidized bed reactors in wastewater treatment – A review of the major design and operational parameters. **Journal of Cleaner Production**, v. 141, p.1492-1514, jan. 2017.

BERTOLETTI, E. **Controle ecotoxicologico de efluentes liquidos no estado de Sao Paulo.** Sao Paulo: CETESB, 2008. 36 p.

BIALEK, Katarzyna et al. Quantitative and qualitative analyses of methanogenic community development in high-rate anaerobic bioreactors. **Water Research**, v. 45, n. 3, p.1298-1308, jan. 2011.

BIALEK, Katarzyna; CYSNEIROS, Denise; O'FLAHERTY, Vincent. Low-Temperature (10°C) Anaerobic Digestion of Dilute Dairy Wastewater in an EGSB Bioreactor: Microbial Community Structure, Population Dynamics, and Kinetics of Methanogenic Populations. **Archaea**, v. 2013, p.1-10, 2013.

BORJA, R. et al. Influence of immobilization supports on the kinetics of anaerobic purification of cheese factory wastewaters. **Biomass and Bioenergy**, v. 4, n. 1, p.15-22, jan. 1993.

BRAGA, Juliana K. et al. Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate in commercial laundry wastewater by an anaerobic fluidized bed reactor. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 50, n. 9, p. 946-957, 2015.

BRUIL, Anton et al. In vitro leucocyte adhesion to modified polyurethane surfaces. **Biomaterials**, v. 13, n. 13, p.915-923, jan. 1992.

BRYERS J.; CHARACKLIS W. Biofilm Accumulation & Activity: A process Analysis Approach. In: MELO L. et al. **Biofilms.** Dordrecht: Springer, 1992. p. 221-237

BRYERS, J. Modeling biofilm accumulation. In: BAZIN, M; PROSSER, J. **Physiological Models in Microbiology.** Boca Raton: CRC Press, 1988. p. 123-159

CARLIN, Nicholas T. et al. The economics of reburning with cattle manure-based biomass in existing coal-fired power plants for NOx and CO2 emissions control. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, n. 9, p.1139-1157, set. 2009.

CASTRILLÓN, L. et al. Anoxic–aerobic treatment of the liquid fraction of cattle manure. **Waste Management**, v. 29, n. 2, p.761-766, fev. 2009.

CENTURION, V. et al. Anaerobic co-digestion of commercial laundry wastewater and domestic sewage in a pilot-scale EGSB reactor: The influence of surfactant concentration on microbial diversity. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 127, p.77-86, fev. 2018.

CHEN, Wen-hsing et al. Treatment of campus domestic wastewater using ambient-temperature anaerobic fluidized membrane bioreactors with zeolites as carriers. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 136, p.49-54, jan. 2019.

CHERNICHARO, Carlos Augusto Lemos. **Anaerobic Reactors**. Londres: IWA Publishing, 2007.

CHEROBIM, Verediana Fernanda et al. Soil surface sealing by liquid dairy manure affects saturated hydraulic conductivity of Brazilian Oxisols. **Agricultural Water Management**, v. 203, p.193-196, abr. 2018.

CHEROBIM, Verediana Fernanda; HUANG, Chi-hua; FAVARETTO, Nerilde. Tillage system and time post-liquid dairy manure: Effects on runoff, sediment and nutrients losses. **Agricultural Water Management**, v. 184, p.96-103, abr. 2017.

CHONG, Siewhui et al. The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment – A State-of-the-art review. **Water Research**, v. 46, n. 11, p.3434-3470, jul. 2012.

CONAB. **Histórico Mensal de Leite.** Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-leite. Acesso em: 7 jun. 2019.

CONN, W. **Detergent composition with controlled alkalinity**. U.S. Patent n. 3,846,346, 5 nov. 1974.

CRUZ-SALOMÓN, Abumalé et al. Evaluation of Hydraulic Retention Time on Treatment of Coffee Processing Wastewater (CPWW) in EGSB Bioreactor. **Sustainability**, v. 10, n. 2, p.83-94, dez. 2017.

DAMASCENO, L. H. et al. Effects of feeding time and organic loading in an anaerobic sequencing batch biofilm reactor (ASBBR) treating diluted whey. **Journal of Environmental Management**, v. 85, n. 4, p.927-935, dez. 2007.

DASTYAR, W.; AMANI, T.; ELYASI, S. Investigation of affecting parameters on treating high-strength compost leachate in a hybrid EGSB and fixed-bed reactor followed by electrocoagulation–flotation process. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 95, p.1-11, maio 2015.

DELFORNO, T. et al. Effect of biomass adaptation to the degradation of anionic surfactants in laundry wastewater using EGSB reactors. **Bioresource Technology**, v. 154, p.114-121, fev. 2014.

DELFORNO, T. et al. Microbial characterization and removal of anionic surfactant in an expanded granular sludge bed reactor. **Bioresource Technology**, v. 107, p.103-109, mar. 2012.

DEMIREL, Burak; YENIGUN, Orhan; ONAY, Turgut T.. Anaerobic treatment of dairy wastewaters: a review. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 8, p.2583-2595, jul. 2005.

DEMIRER, G; CHEN, S. Two-phase anaerobic digestion of unscreened dairy manure. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 11, p.3542-3549, nov. 2005.

DENG, Minjie et al. Acute toxicity reduction and toxicity identification in pigment-contaminated wastewater during anaerobic-anoxic-oxic (A/A/O) treatment process. **Chemosphere**, v. 168, p.1285-1292, fev. 2017.

DERIKX, P.; WILLERS, H.; HAVE, P.j. Ten. Effect of pH on the behaviour of volatile compounds in organic manures during dry-matter determination. **Bioresource Technology**, v. 49, n. 1, p.41-45, jan. 1994.

DIAS, P. C. **Tratamento da fração líquida de estrume bovino em reator anaeróbio híbrido em escala piloto.** 2017. 106 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

DUGBA, Prince N.; ZHANG, Ruihong. Treatment of dairy wastewater with two-stage anaerobic sequencing batch reactor systems—thermophilic versus mesophilic operations. **Bioresource Technology**, v. 68, n. 3, p. 225-233, 1999.

EASTMAN, John A.; FERGUSON, John F. Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, v. 53, n. 3, p. 352-366, 1981.

ESCUDIÉ, Renaud et al. Control of start-up and operation of anaerobic biofilm reactors: An overview of 15 years of research. **Water Research**, v. 45, n. 1, p.1-10, jan. 2011.

EUCLIDES FILHO, K. Bovinocultura de corte no Brasil. **Revista de Política Agrícola**, v. 16, n. 4, p. 121-128, 2007.

FAILLE, Christine et al. Adhesion of Bacillus spores and Escherichia coli cells to inert surfaces: role of surface hydrophobicity. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 8, p.728-738, ago. 2002.

FANG, Cheng et al. Comparison of UASB and EGSB reactors performance, for treatment of raw and deoiled palm oil mill effluent (POME). **Journal of Hazardous Materials**, v. 189, n. 1-2, p.229-234, maio 2011.

FANG, Cheng; BOE, Kanokwan; ANGELIDAKI, Irini. Biogas production from potato-juice, a by-product from potato-starch processing, in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) and expanded granular sludge bed (EGSB) reactors. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p.5734-5741, maio 2011.

FENG, Yangyang et al. Performance evaluation of anaerobic fluidized bed reactors using brick beads and porous ceramics as support materials for treating terephthalic acid wastewater. **Desalination and Water Treatment**, v. 53, n. 7, p.1814-1821, 19 nov. 2013.

FERNÁNDEZ, N. et al. Performance evaluation of an anaerobic fluidized bed reactor with natural zeolite as support material when treating high-strength distillery wastewater. **Renewable Energy**, v. 33, n. 11, p.2458-2466, nov. 2008.

FERNÁNDEZ, N. et al. Real evidence about zeolite as microorganism's immobilizer in anaerobic fluidized bed reactors. **Process Biochemistry**, v. 42, n. 4, p.721-728, abr. 2007.

FERREIRA, Vanessa R.a. et al. Fluoroquinolones biosorption onto microbial biomass: activated sludge and aerobic granular sludge. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 110, p.53-60, maio 2016.

FERRERO, P. et al. Anaerobic degradation of glycol ether-ethanol mixtures using EGSB and hybrid reactors: Performance comparison and ether cleavage pathway. **Journal Of Environmental Management**, [s.l.], v. 213, p.159-167, maio 2018.

FIA, Fátima RL et al. Remoção de compostos fenólicos em reatores anaeróbios de leito fixo com diferentes materiais suporte. **Revista Brasileira de Engenharia Agricola e Ambiental-Agriambi**, v. 14, n. 10, 2010.

FLOTATS, Xavier et al. Manure treatment technologies: On-farm versus centralized strategies. NE Spain as case study. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 22, p.5519-5526, nov. 2009.

FONT-PALMA, Carolina. Methods for the Treatment of Cattle Manure—A Review. **C**, v. 5, n. 2, p.27-47, 15 maio 2019.

FORESTI, E. et al. **Fundamentos do tratamento anaeróbio**. In: CAMPOS J. R. Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo. Rio de Janerio: ABES, 1999. p 29-52.

FRANCHINO, Marta et al. Microalgae treatment removes nutrients and reduces ecotoxicity of diluted piggery digestate. **Science of The Total Environment**, v. 569-570, p.40-45, nov. 2016.

GARCIA, H. et al. Flocculants effect in biomass retention in a UASB reactor treating dairy manure. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 14, p.6028-6036, set. 2008.

GARCIA, M. et al. Effects of bed materials on the performance of an anaerobic sequencing batch biofilm reactor treating domestic sewage. **Journal of Environmental Management**, v. 88, n. 4, p.1471-1477, set. 2008.

GARCIA-CALDERON, D. et al. Anaerobic digestion of wine distillery wastewater in down-flow fluidized bed. **Water Research**, v. 32, n. 12, p.3593-3600, dez. 1998.

GARCÍA-MORALES, J.; ROMERO, L.; SALES, D. Influence of operational conditions on biofilm specific activity of an anaerobic fluidized bed reactor. **Water Science and Technology**, v. 47, n. 5, p.197-200, mar. 2003.

GHORBANIAN, Mahyar et al. Impact of Hydraulic Retention Time at Constant Organic Loading Rate in a Two-Stage Expanded Granular Sludge Bed Reactor. **Environmental Engineering Science**, v. 31, n. 6, p.317-323, jun. 2014.

GONG, Wei-jia et al. Selection and evaluation of biofilm carrier in anaerobic digestion treatment of cattle manure. **Energy**, v. 36, n. 5, p.3572-3578, maio 2011.

GRANATTO, C. et al. Scale-up evaluation of anaerobic degradation of linear alkylbenzene sulfonate from sanitary sewage in expanded granular sludge bed reactor. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 138, p.23-32, mar. 2019.

GARTISER, Stefan et al. Whole effluent assessment of industrial wastewater for determination of bat compliance. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 17, n. 4, p.856-865, 7 fev. 2010.

GAO, R; WANG, J. Effects of pH and temperature on isotherm parameters of chlorophenols biosorption to anaerobic granular sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 145, n. 3, p.398-403, 16 jul. 2007.

GUJER, W.; ZEHNDER, A.J.B. Conversion processes in anaerobic digestion. **Water science and technology**, v. 15, n. 8-9, p. 127-167, 1983.

HABOUZIT, Frédéric et al. Influence of support material properties on the potential selection of Archaea during initial adhesion of a methanogenic consortium. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 5, p.4054-4060, mar. 2011.

HARPER, Stephen R.; POHLAND, Frederick G. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 28, n. 4, p.585-602, abr. 1986.

HE, Zhongqi; PAGLIARI, Paulo H.; WALDRIP, Heidi M. Applied and Environmental Chemistry of Animal Manure: A Review. **Pedosphere**, v. 26, n. 6, p.779-816, dez. 2016.

HEIJNEN, J. J. et al. Formation of Biofilms in a Biofilm Air-Lift Suspension Reactor. **Water Science and Technology**, v. 26, n. 3-4, p.647-654, ago. 1992.

HEIJNEN, J.J. et al. Review on the application of anaerobic fluidized bed reactors in waste-water treatment. **The Chemical Engineering Journal**, v. 41, n. 3, p.37-50, set. 1989.

HOLM-NIELSEN, J.; SEADI, T. Al; OLESKOWICZ-POPIEL, P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 22, p.5478-5484, nov. 2009.

HUYSMAN, P. et al. Factors affecting the colonization of non porous and porous packing materials in model upflow methane reactors. **Biotechnology Letters**, v. 5, n. 9, p. 643-648, 1983.

IBGE. **Atlas Nacional Digital do Brasil.** Disponível em: https://www.ibge.gov.br/apps/atlas_nacional/. Acesso em: 15 jun. 2019.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal 2017**. Disponível em: https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/. Acesso em: 15 maio 2019

JAAFARI, Jalil et al. Influence of upflow velocity on performance and biofilm characteristics of Anaerobic Fluidized Bed Reactor (AFBR) in treating high-strength wastewater. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 12, n. 1, p. 139, 2014.

JAFARI, Jalil et al. Investigation of anaerobic fluidized bed reactor/aerobic moving bed bio reactor (AFBR/MMBR) system for treatment of currant wastewater. **Iranian Journal of Public Health**, v. 42, n. 8, p. 860, 2013.

JANYASUTHIWONG, Suthee et al. Effect of pH on Cu, Ni and Zn removal by biogenic sulfide precipitation in an inversed fluidized bed bioreactor. **Hydrometallurgy**, [s.l.], v. 158, p.94-100, dez. 2015

JERIS, John S.; McCARTY, Perry L. The Biochemistry of Methane Fermentation Using C^{14} Tracers. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 37, n. 2, p. 178-192, 1965.

JIANG, Jiankai et al. Crater formation on anaerobic granular sludge. **Chemical Engineering Journal**, v. 300, p.423-428, set. 2016.

KALYUZHNYI, S. et al. The development of biological methods for utilisation and treatment of diluted manure streams. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 223-229, 1999.

KENNEDY, K.j; LU, Jinghua; MOHN, William W. Biosorption of chlorophenols to anaerobic granular sludge. **Water Research,** v. 26, n. 8, p.1085-1092, ago. 1992.

KERčMAR, Jasmina; PINTAR, Albin. Support material dictates the attached biomass characteristics during the immobilization process in anaerobic continuous-flow packed-bed bioreactor. **Anaerobe**, v. 48, p.194-202, dez. 2017.

KIM, Jeong Ok et al. Immobilization methods for continuous hydrogen gas production biofilm formation versus granulation. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 3-4, p.1331-1337, mar. 2005.

KIM, Jeonghwan et al. Anaerobic Fluidized Bed Membrane Bioreactor for Wastewater Treatment. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 2, p.576-581, 15 jan. 2011.

KNAPP, J.R. et al. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 6, p.3231-3261, jun. 2014.

KRUGLOVA, Antonina et al. Biodegradation of ibuprofen, diclofenac and carbamazepine in nitrifying activated sludge under 12°C temperature conditions. **Science of the Total Environment**, v. 499, p.394-401, nov. 2014.

KUMAR, Pratik et al. Novel fluidized-bed biofilm reactor for concomitant removal of microcystin-LR and organics. **Chemical Engineering Journal**, v. 359, p.99-111, mar. 2019.

LAFITA, C.; PENYA-ROJA, J. M.; GABALDÓN, C. Anaerobic removal of 1-methoxy-2-propanol under ambient temperature in an EGSB reactor. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, n. 11, p.2137-2146, 20 ago. 2015.

LEION, Henrik; FRICK, Volkmar; HILDOR, Fredrik. Experimental Method and Setup for Laboratory Fluidized Bed Reactor Testing. **Energies**, v. 11, n. 10, p.2505-2522, set. 2018.

LETTINGA, G. et al. Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, n. 4, p.699-734, abr. 1980.

LETTINGA, Gatze. Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 67, n. 1, p. 3-28, 1995.

LI, Weiguang et al. Influence of the organic loading rate on the performance and the granular sludge characteristics of an EGSB reactor used for treating traditional Chinese medicine wastewater. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 13, p.8167-8175, 28 mar. 2014.

LI, Zhonghua et al. Performance and microbial community of an expanded granular sludge bed reactor in the treatment of cephalosporin wastewater. **Bioresource Technology**, v. 275, p.94-100, mar. 2019.

LIAO, P.; LO, K. Methane production from dairy manure filtrate and supernatants. **Biomass**, v. 12, n. 1, p.1-6, jan. 1987.

LIAO, P.; LO, K.; CHIENG, S. Effect of liquid—solids separation on biogas production from dairy manure. **Energy in Agriculture**, v. 3, p.61-69, jan. 1984.

LIER; MAHMOUD; ZEEMAN. Anaerobic Wastewater Treatment. In: HENZE et al.(Ed). **Biological wastewater Tretament: Principles Modeling and Design.** Londres: IWA Publishing, 2008. p. 401-442

LIM, Seung Joo; KIM, Tak-hyun. Applicability and trends of anaerobic granular sludge treatment processes. **Biomass and Bioenergy**, v. 60, p.189-202, jan. 2014.

LIN, Jian Qing et al. Study on Microorganisms' Immobilization by Different Support Materials in the UASB System. **Advanced Materials Research**, v. 295-297, p.323-329, jul. 2011.

LIU, Xian-wei; SHENG, Guo-ping; YU, Han-qing. Physicochemical characteristics of microbial granules. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 6, p.1061-1070, nov. 2009.

LIU, Yongdi et al. Effects of different biofilm carriers on biogas production during anaerobic digestion of corn straw. **Bioresource Technology**, v. 244, p.445-451, nov. 2017.

LIU, Yu et al. Anaerobic granulation technology for wastewater treatment. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 18, n. 2, p.99-113, 2002.

LIU, Yu et al. Mechanisms and models for anaerobic granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactor. **Water Research**, v. 37, n. 3, p.661-673, fev. 2003.

LIU, Yu; TAY, Joo-hwa. State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 7, p.533-563, set. 2004.

LO, K.; LIAO, P. High-rate anaerobic digestion of screened dairy manure. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 32, n. 4, p.349-358, dez. 1985.

LOYON, L. Overview of manure treatment in France. **Waste Management**, v. 61, p.516-520, mar. 2017.

MA, Jingwei et al. Kinetics of psychrophilic anaerobic sequencing batch reactor treating flushed dairy manure. **Bioresource Technology**, v. 131, p.6-12, mar. 2013.

MACLEOD, F. A.; GUIOT, S. R.; COSTERTON, J. W. Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 6, p. 1598-1607, 1990.

MAILLER, R. et al. Removal of a wide range of emerging pollutants from wastewater treatment plant discharges by micro-grain activated carbon in fluidized bed as tertiary treatment at large pilot scale. **Science of the Total Environment**, v. 542, p.983-996, jan. 2016.

MAO, Chunlan et al. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p.540-555, maio 2015.

MAPA. **Projeções do agronegócio: Brasil 2016/17 a 2026/27 Projeções de longo prazo**. Brasília: SPA/Mapa, 2017.

MAPA. **Valor Bruto da Produção Agropecuária (VBP)**. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/valor-bruto-da-producao-agropecuaria-vbp. Acesso em: 16 jun. 2019,

MARAÑÓN, E. et al. Reducing the environmental impact of methane emissions from dairy farms by anaerobic digestion of cattle waste. **Waste Management**, v. 31, n. 8, p.1745-1751, ago. 2011.

MARTINEZ, José et al. Livestock waste treatment systems for environmental quality, food safety, and sustainability. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 22, p.5527-5536, nov. 2009.

MEDEIROS, Sérgio; GOMES, Rodrigo; BUNGENSTAB, Davi. **Nutrição de Bovinos de corte: Fundamentos e aplicações.** Brasília/DF: EMBRAPA, 2015.

MELIDIS, Paris; GEORGIOU, Dimitris; AIVASIDIS, Alexandros. Scale-up and design optimization of anaerobic immobilized cell reactors for wastewater treatment. **Chemical Engineering and Processing**: Process Intensification, v. 42, n. 11, p.897-908, nov. 2003.

MOHARRAM, M.; ABDELHALIM, H.; ROZAIK, E. Anaerobic up flow fluidized bed reactor performance as a primary treatment unit in domestic wastewater treatment. **Hbrc Journal**, v. 12, n. 1, p.99-105, abr. 2016.

MØLLER, H. Solid–liquid separation of livestock slurry: efficiency and cost. **Bioresource Technology**, v. 74, n. 3, p.223-229, set. 2000.

MØLLER, H.; SOMMER, S.; AHRING, B. Methane productivity of manure, straw and solid fractions of manure. **Biomass and Bioenergy**, v. 26, n. 5, p.485-495, maio 2004.

MONTALVO, Silvio et al. Application of natural zeolites in anaerobic digestion processes: A review. **Applied Clay Science**, v. 58, p.125-133, abr. 2012.

MOSEY, F e. Mathematical Modelling of the Anaerobic Digestion Process: Regulatory Mechanisms for the Formation of Short-Chain Volatile Acids from Glucose. **Water Science and Technology**, v. 15, n. 8-9, p.209-232, ago. 1983.

MOTA, Vania Corrêa et al. Confinamento para bovinos leiteiros: histórico e características. **Pubvet**, v. 11, n. 5, p.433-442, maio 2017

MOTTERAN, Fabrício et al. Degradation of high concentrations of nonionic surfactant (linear alcohol ethoxylate) in an anaerobic fluidized bed reactor. **Science of the Total Environment**, v. 481, p.121-128, maio 2014.

MURI, Petra et al. Influence of support materials on continuous hydrogen production in anaerobic packed-bed reactor with immobilized hydrogen producing bacteria at acidic conditions. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 111, p.87-96, abr. 2018.

NELSON, Michael J.; NAKHLA, George; ZHU, Jesse. Fluidized-Bed Bioreactor Applications for Biological Wastewater Treatment: A Review of Research and Developments. **Engineering**, v. 3, n. 3, p.330-342, jun. 2017.

NGUYEN, Vi et al. Physicochemical analysis of initial adhesion and biofilm formation of Methanosarcina barkeri on polymer support material. **Colloids and Surfaces B**: Biointerfaces, v. 143, p.518-525, jul. 2016.

NICOLELLA, Cristiano; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. **Journal of Biotechnology**, v. 80, n. 1, p.1-33, jun. 2000.

NOMURA, Toshiyuki et al. Selective Immobilization of Aceticlastic Methanogens to Support Material [Translated]†. **Kona Powder and Particle Journal**, v. 26, p.246-253, 2008.

PANDEY, Siddhartha; SARKAR, Sudipta. Anaerobic treatment of wastewater using a two-stage packed-bed reactor containing polyvinyl alcohol gel beads as biofilm carrier. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 2, p.1575-1585, abr. 2017.

OCHOA-HERRERA, Valeria; SIERRA-ALVAREZ, Reyes. Removal of perfluorinated surfactants by sorption onto granular activated carbon, zeolite and sludge. **Chemosphere**, v. 72, n. 10, p.1588-1593, ago. 2008.

OLIVEIRA, Lorena Lima de et al. Influence of support material on the immobilization of biomass for the degradation of linear alkylbenzene sulfonate in anaerobic reactors. **Journal of Environmental Management**, v. 90, n. 2, p.1261-1268, fev. 2009.

PANG, Haoran et al. Effective biodegradation of organic matter and biogas reuse in a novel integrated modular anaerobic system for rural wastewater treatment: A pilot case study. **Chemical Engineering and Processing**: Process Intensification, v. 119, p.131-139, set. 2017.

PUNZI, Marisa et al. Combined anaerobic–ozonation process for treatment of textile wastewater: Removal of acute toxicity and mutagenicity. **Journal of Hazardous Materials**, v. 292, p.52-60, jul. 2015.

PEREIRA, Erlon Lopes; CAMPOS, Cláudio Milton Montenegro; MOTTERAN, Fabricio. Physicochemical study of pH, alkalinity and total acidity in a system composed of Anaerobic Baffled Reactor in series with Upflow Anaerobic Sludge Blanket reactor in the treatment of pig farming wastewater **Acta Scientiarum Technology**, v. 35, n. 3, p.477-483, jun. 2013.

PERSOONE, G. et al. A practical and user-friendly toxicity classification system with microbiotests for natural waters and wastewaters. **Environmental Toxicology**, v. 18, n. 6, p.395-402, nov. 2003.

PETTYGROVE, G. S.; HEINRICH, A. L.; EAGLE, A. J. Dairy manure nutrient content and forms. **University of California Cooperative Extension**, jan. 2009.

PIVATO, Alberto et al. Use of digestate from a decentralized on-farm biogas plant as fertilizer in soils: An ecotoxicological study for future indicators in risk and life cycle assessment. **Waste Management**, v. 49, p.378-389, mar. 2016.

PUYOL, D. et al. Comparison of UASB and EGSB performance on the anaerobic biodegradation of 2,4-dichlorophenol. **Chemosphere**, v. 76, n. 9, p.1192-1198, ago. 2009.

RAJESHWARI, K. et al. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 4, n. 2, p.135-156, jun. 2000.

RIBAS, Maria Magdalena Ferreira; MORAES, Elizabeth de Mattos; FORESTI, Eugenio. Avaliação da acurácia de diversos métodos para determinação de ácidos graxos voláteis e alcalinidade a bicarbonato para monitoramento de reatores anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, n. 3, p. 240-246, 2007.

RIBEIRO, R. et al. Influence of the carbon source on the anaerobic biomass adhesion on polyurethane foam matrices. **Journal of Environmental Management**, v. 74, n. 2, p.187-194, jan. 2005

RICO, C. et al. Anaerobic digestion of the liquid fraction of dairy manure in pilot plant for biogas production: Residual methane yield of digestate. **Waste Management**, v. 31, n. 9-10, p.2167-2173, set. 2011.

RICO, C. et al. Solid – Liquid separation of dairy manure: Distribution of components and methane production. **Biomass and Bioenergy**, v. 39, p.370-377, abr. 2012.

RICO, C.; GARCÍA, H.; RICO, J.L. Physical–anaerobic–chemical process for treatment of dairy cattle manure. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p.2143-2150, fev. 2011.

RICO, Carlos; RICO, José Luis; LASA, Cristina. Anaerobic digestion of the liquid fraction of dairy manure separated by screw pressing and centrifugation in a upflow anaerobic sludge blanket reactor at 25 °C. **Biosystems Engineering**, v. 112, n. 4, p.344-351, ago. 2012.

RICO, J. et al. Characterisation of solid and liquid fractions of dairy manure with regard to their component distribution and methane production. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 5, p.971-979, mar. 2007.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, v. 58, n 5, p. 406-411, maio 1986.

RISBERG, Kajsa et al. Comparative characterization of digestate versus pig slurry and cow manure – Chemical composition and effects on soil microbial activity. **Waste Management**, v. 61, p.529-538, mar. 2017.

ROMERO-GÜIZA, M. et al. The role of additives on anaerobic digestion: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p.1486-1499, maio 2016.

SAFFERMAN, Steven I.; BISHOP, Paul L.. Aerobic Fluidized Bed Reactor with Internal Media Cleaning. **Journal of Environmental Engineering**, v. 122, n. 4, p.284-291, abr. 1996.

SALOMONI, C. et al. Enhanced methane production in a two-phase anaerobic digestion plant, after CO2 capture and addition to organic wastes. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 11, p.6443-6448, jun. 2011.

SANCINETTI, G. P. et al. Phenol degradation in an anaerobic fluidized bed reactor packed with low density support materials. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 29, n. 1, p.87-98, mar. 2012.

SARAVANAN, V.; SREEKRISHNAN, T. Modelling anaerobic biofilm reactors—A review. **Journal of Environmental Management**, v. 81, n. 1, p.1-18, out. 2006.

SCHLEGEL, Alan J. et al. Changes in soil nutrients after 10 years of cattle manure and swine effluent application. **Soil and Tillage Research**, v. 172, p.48-58, set. 2017.

SCULLY, Colm; COLLINS, Gavin; O'FLAHERTY, Vincent. Anaerobic biological treatment of phenol at 9.5–15°C in an expanded granular sludge bed (EGSB)-based bioreactor. **Water Research**, v. 40, n. 20, p.3737-3744, dez. 2006.

SEGUEZZO, Lucas et al. A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresource Technology**, v. 65, n. 3, p.175-190, set. 1998

ŞEN, S; DEMIRER, G.n. Anaerobic treatment of real textile wastewater with a fluidized bed reactor. **Water Research**, v. 37, n. 8, p.1868-1878, abr. 2003.

SEPEHR, Mohammad Noori et al. Removal of hardness agents, calcium and magnesium, by natural and alkaline modified pumice stones in single and binary systems. **Applied Surface Science**, v. 274, p.295-305, jun. 2013.

SHELDON, Marshall; ERDOGAN, Innocentia. Multi-stage EGSB/MBR treatment of soft drink industry wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 285, p.368-377, fev. 2016.

SHI, Liu et al. Is A/A/O process effective in toxicity removal? Case study with coking wastewater. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, p.363-368, ago. 2017.

SHIN, Chungheon et al. Effects of influent DO/COD ratio on the performance of an anaerobic fluidized bed reactor fed low-strength synthetic wastewater. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 21, p.9860-9865, nov. 2011.

SI, Chongdian; ZHOU, Jing; GUO, Qingjie. Characterization of pressure fluctuation signals in an acoustic bubbling fluidized bed. **Journal of The Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 42, n. 6, p.929-936, nov. 2011.

SINGH, R.P; KUMAR, S.; OJHA, C. Nutrient requirement for UASB process: a review. **Biochemical Engineering Journal**, v. 3, n. 1, p.35-54, fev. 1999.

SMITH, P. H.; MAH, Robert A. Kinetics of acetate metabolism during sludge digestion. **Applied microbiology**, v. 14, n. 3, p. 368-371, 1966.

SONG, Young-chae; KWON, Sang-jo; WOO, Jung-hui. Mesophilic and thermophilic temperature co-phase anaerobic digestion compared with single-stage mesophilic- and thermophilic digestion of sewage sludge. **Water Research**, v. 38, n. 7, p.1653-1662, abr. 2004.

SOUSA, Cláudia; TEIXEIRA, Pilar; OLIVEIRA, Rosário. Influence of Surface Properties on the Adhesion ofStaphylococcus epidermidisto Acrylic and Silicone. **International Journal of Biomaterials**, v. 2009, p.1-9, 2009.

SOWMEYAN, R.; SWAMINATHAN, G. Evaluation of inverse anaerobic fluidized bed reactor for treating high strength organic wastewater. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 9, p.3877-3880, jun. 2008.

SPEECE, Richard E. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. **Environmental Science & Technology**, v. 17, n. 9, p.416-427, set. 1983.

SPENCER J.; SPENCER AL. **Microbiology**. New Jersey: Humana Press. 2004.

STAMS, Alfons J. M. Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 66, n. 1-3, p.271-294, 1994.

STOODLEY, P. et al. Biofilms as Complex Differentiated Communities. **Annual Review of Microbiology**, v. 56, n. 1, p.187-209, out. 2002.

STYLIANOU, M.A.; INGLEZAKIS, V.J.; LOIZIDOU, M. Comparison of Mn, Zn, and Cr removal in fluidized- and fixed-bed reactors by using clinoptilolite. **Desalination and Water Treatment**, v. 53, n. 12, p.3355-3362, jul. 2014.

SUBRAMANYAM, Revanuru; MISHRA, Indra Mani. Characteristics of methanogenic granules grown on glucose in an upflow anaerobic sludge blanket reactor. **Biosystems Engineering**, v. 114, n. 2, p.113-123, fev. 2013.

SWITZENBAUM, Michael S.; JEWELL, William J. Anaerobic attached-film expanded-bed reactor treatment. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, p. 1953-1965, 1980.

TECHNOLOGY FOCUS. An alternative manure treatment technology. **Filtration + Separation**, v. 51, n. 5, p.44-45, set. 2014

THIAGO, Luiz. **Confinamento de bovinos.** Brasília/DF: EMBRAPA, 1996

THIELE, Jurgen H.; ZEIKUS, J. Gregory. Control of interspecies electron flow during anaerobic digestion: significance of formate transfer versus hydrogen transfer during syntrophic methanogenesis in flocs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 20-29, 1988.

TIGINI, Valeria et al. Is digestate safe? A study on its ecotoxicity and environmental risk on a pig manure. **Science of the Total Environment**, v. 551-552, p.127-132, maio 2016.

TISA, Farhana; RAMAN, Abdul Aziz Abdul; DAUD, Wan Mohd Ashri Wan. Applicability of fluidized bed reactor in recalcitrant compound degradation through advanced oxidation processes: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 146, p.260-275, dez. 2014.

TORRES, K. et al. Granulation and microbial community dynamics in the chitosan-supplemented anaerobic treatment of wastewater polluted with organic solvents. **Water Research**, v. 130, p.376-387, mar. 2018.

UMAÑA, Oscar et al. Treatment of screened dairy manure by upflow anaerobic fixed bed reactors packed with waste tyre rubber and a combination of waste tyre rubber and zeolite: Effect of the hydraulic retention time. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 15, p.7412-7417, out. 2008.

USDA. **Livestock and Poultry: World Markets and Trade.** Disponível em: https://www.fas.usda.gov/data/livestock-and-poultry-world-markets-and-trade. Acesso em: 7 jun. 2019.

VAN HORN, H.H. et al. Components of Dairy Manure Management Systems. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p.2008-2030, jul. 1994.

VAN LOOSDRECHT et al. **Experimental Methods in Wastewater Treatment**. Online: IWA Publishing. 2016. 362 p.

VELUCHAMY, Raaja; LEWANDOWSKI, Zbigniew; BEYENAL, Haluk. Characterizing temporal development of biofilm porosity using artificial neural networks. **Water Science and Technology**, v. 57, n. 12, p.1867-1872, jun. 2008.

VIDAL, A. G. **Produção de biogás em reator anaeróbio de alta taxa alimentado com fração líquida de esterco bovino peneirado**. 2015. 90 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento), Escola de engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**: princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Belo Horizonte: UFMG, 2005

WATANABE, Ryoya et al. Enhancing methane production during the anaerobic digestion of crude glycerol using Japanese cedar charcoal. **Bioresource Technology**, v. 150, p.387-392, dez. 2013.

WANG, Shuo et al. Piggery wastewater treatment by aerobic granular sludge: Granulation process and antibiotics and antibiotic-resistant bacteria removal and transport. **Bioresource Technology**, v. 273, p.350-357, fev. 2019.

WANG, Qinghong et al. Treatment of ammonium-rich swine waste in modified porphyritic andesite fixed-bed anaerobic bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 111, p.70-75, maio 2012.

WEN, Zhiyou; FREAR, Craig; CHEN, Shulin. Anaerobic digestion of liquid dairy manure using a sequential continuous-stirred tank reactor system. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 82, n. 8, p.758-766, 2007.

WILKIE, A. et al. Fixed-film Anaerobic Digestion of Flushed Dairy Manure after Primary Treatment: Wastewater Production and Characterisation. **Biosystems Engineering**, v. 89, n. 4, p.457-471, dez. 2004.

WU, Long et al. Production of activated carbon from walnut shell by CO2 activation in a fluidized bed reactor and its adsorption performance of copper ion. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 20, n. 3, p.1676-1688, abr. 2018.

WU, Shu-yii et al. Fermentative hydrogen production and bacterial community structure in high-rate anaerobic bioreactors containing silicone-immobilized and self-flocculated sludge. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 93, n. 5, p.934-946, 2006.

WU, Shu-yii; CHU, Chen-yeon; SHEN, Yuan-chang. Effect of calcium ions on biohydrogen production performance in a fluidized bed bioreactor with activated carbon-immobilized cells. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 20, p.15496-15502, out. 2012.

XING, W. et al. Reactor performance and microbial community of an EGSB reactor operated at 20 and 15°C. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 3, p.848-857, set. 2009.

XU, Hui et al. Granulation process in an expanded granular sludge blanket (EGSB) reactor for domestic sewage treatment: Impact of extracellular polymeric substances compositions and evolution of microbial population. **Bioresource Technology**, v. 269, p.153-161, dez. 2018.

YANG, Yingnan et al. Influence of bed materials on methanogenic characteristics and immobilized microbes in anaerobic digester. **Materials Science and Engineering**: C, v. 24, n. 3, p.413-419, abr. 2004.

YESHANEW, Martha M. et al. Start-up of an anaerobic fluidized bed reactor treating synthetic carbohydrate rich wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 184, p.456-464, dez. 2016.

YOUNG, James C.; MCCARTY, Perry L. The anaerobic filter for waste treatment. **Journal Water Pollution Control Federation**, p. R160-R173, 1969.

YUAN, Lei et al. Role of Fe/pumice composition and structure in promoting ozonation reactions. **Applied Catalysis B**: Environmental, v. 180, p.707-714, jan. 2016.

ZHANG, Chunyang et al. Effect of Parameters on Anaerobic Digestion EGSB Reactor for Producing Biogas. **Procedia Engineering**, v. 205, p.3749-3754, 2017.

ZHANG, R. H.; WESTERMAN, P. W. Solid-liquid separation of animal manure for odor control and nutrient management. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 13, n. 5, p.657-664, 1997.

ZHANG, Zhen-peng et al. The role of acid incubation in rapid immobilization of hydrogen-producing culture in anaerobic upflow column reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 19, p.5151-5160, out. 2008.

ZOU, G. et al. High rate autotrophic denitrification in fluidized-bed biofilm reactors. **Chemical Engineering Journal**, v. 284, p.1287-1294, jan. 2016.

APÊNDICE A – TABELAS DE ANOVA

Tabela 31 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para o pH das saídas dos reatores durante o tratamento do efluente

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F Tabelado	Valor P
Interação	0,09728	8	0,01216	0,4391	0,8950
Fases	0,08866	4	0,02216	0,8004	0,5276
Reatores	0,9371	2	0,4685	16,92	<0,0001
Resíduos	2,908	105	0,02769		

Fonte: Autoria própria

Tabela 32 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a concentração de AT das saídas dos reatores durante o tratamento do efluente

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F Tabelado	Valor P
Interação	132462	8	16558	0,7825	0,6190
Fases	934399	4	233600	11,04	<0,0001
Reatores	1203933	2	601967	28,45	<0,0001
Resíduos	2221754	105	21160		

Fonte: Autoria própria

Tabela 33 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a concentração de AP das saídas dos reatores durante o tratamento do efluente

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F Tabelado	Valor P
Interação	119116	8	14889	1,048	0,4052
Fases	326456	4	81614	5,746	0,0003
Reatores	907720	2	453860	31,95	<0,0001
Resíduos	1491454	105	14204		

Fonte: Autoria própria

Tabela 34 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a concentração de AGV das saídas dos reatores durante o tratamento do efluente

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F Tabelado	Valor P
Interação	57172	8	7147	3,198	0.0027
Fases	286238	4	71559	32,02	<0.0001
Reatores	66583	2	33291	14,90	<0.0001
Resíduos	234626	105	2235		

Fonte: Autoria própria

Tabela 35 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a remoção de DQO_t pelos reatores durante o tratamento do efluente

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F Tabelado	Valor P
Interação	412,5	8	51,57	11,70	<0.0001
Fases	2012	4	503,0	114,1	<0.0001
Reatores	314,5	2	157,3	35,68	<0.0001
Resíduos	198,4	45	4,408		

Fonte: Autoria própria

Tabela 36 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a remoção de DQOd pelos reatores durante o tratamento do efluente

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F Tabelado	Valor P
Interação	458,8	8	57,36	5,143	0,0001
Fases	2640	4	659,9	59,17	<0,0001
Reatores	233,8	2	116,9	10,48	0,0002
Resíduos	501,9	45	11,15		

Fonte: Autoria própria

Tabela 37 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a remoção de SV pelos reatores durante o tratamento do efluente

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F Tabelado	Valor P
Interação	364,5	8	45,56	0,6930	0,6956
Fases	2360	4	590,0	8,974	<0,0001
Reatores	420,9	2	210,5	3,201	0,0501
Resíduos	2959	45	65,75		

Fonte: Autoria própria

Tabela 38 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a remoção de ST pelos reatores durante o tratamento do efluente

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F Tabelado	Valor P
Interação	432,9	8	54,11	0,9799	0,4640
Fases	2766	4	691,5	12,52	<0,0001
Reatores	570,5	2	285,3	5,165	0,0096
Resíduos	2485	45	55,23		

Fonte: Autoria própria

Tabela 39 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a produção específica de metano em função de volume de reator durante o tratamento do efluente

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F Tabelado	Valor P
Interação	3,224	8	0,4031	4,944	0,0002
Fases	61,22	4	15,31	187,8	<0,0001
Reatores	4,128	2	2,064	25,32	<0,0001
Resíduos	3,668	45	0,08152		

Fonte: Autoria própria

Tabela 40 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a produção específica de metano em função de DQO removida de reator durante o tratamento do efluente

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F Tabelado	Valor P
Interação	0,0005825	8	7,281e-005	0,8165	0,5920
Fases	0,02194	4	0,005485	61,51	<0,0001
Reatores	0,008142	2	0,004071	45,65	<0,0001
Resíduos	0,004013	45	8,917e-005		

Fonte: Autoria própria

Tabela 41 - Análise de variância de dois fatores (Fases e Reatores) para a produção específica de metano em função de SV removidos de reator durante o tratamento do efluente

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F Tabelado	Valor P
Interação	0,004972	8	0,0006216	0,1091	0,9987
Fases	0,09057	4	0,02264	3,975	0,0076
Reatores	0,006880	2	0,003440	0,6039	0,5510
Resíduos	0.2563	45	0.005696		

Fonte: Autoria própria