

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
ENGENHARIA AMBIENTAL**

CAROLINE KIMIE MIYAZAKI

**Ativação de lodo anaeróbio para a inoculação de biometanizadores visando
o tratamento de resíduos sólidos orgânicos**

SÃO CARLOS, SP

2016

CAROLINE KIMIE MIYAZAKI

**Ativação de lodo anaeróbio para a inoculação de biometanizadores visando
o tratamento de resíduos sólidos orgânicos**

Monografia apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), Universidade de São Paulo (USP), como parte dos requisitos para obtenção do título de Graduando em Engenharia Ambiental.

Professor Associado: Valdir Schalch

SÃO CARLOS

2016

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

Miyazaki, Caroline Kimie

M685a Ativação de lodo anaeróbico para a inoculação de biometanizadores visando o tratamento de resíduos sólidos orgânicos/ Caroline Kimie Miyazaki; Orientador Valdir Schalch. São Carlos, 2016

Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2016.

1. Substrato. Biomassa ativa. Lodo do reator UASB. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): **Caroline Kimie Miyazaki**

Data da Defesa: 07/10/2016

Comissão Julgadora:

Resultado:

Valdir Schalch (Orientador(a))

APROVADA

Carolina Ibelli Bianco

Aprovada

André Luis Gomes Simões

APROVADA



Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

À minha família,

Que sempre me apoiaram independente das dificuldades

AGRADECIMENTOS

À Deus, por proporcionar luz e sabedoria em todos os momentos de minha vida;

Ao Celso, Ester, Caio e Chris, por sempre me apoiar, independente das dificuldades que enfrentei e pela constante preocupação do meu bem-estar;

Aos meus parentes, primos, tios, avós, pelo carinho, relacionamento e pelos bons momentos vividos juntos;

Ao Professor Valdir Schalch, por me acolher como sua orientanda;

À Carol e André, pela inabalável paciência, apoio e ajuda durante todo esse tempo que realizei minha pesquisa, levarei todos os ensinamentos que aprendi com vocês para a minha vida;

Ao Alcino, pela ajuda com todos os equipamentos;

À equipe do Laboratório de Saneamento, Júlio, Bianca, Cidinha, Aline e Sabrina, por toda a ajuda e apoio em todas as análises efetuadas;

Às funcionárias do Laboratório de Processos Biológicos, Beth, Janja e Eloísa, por permitirem realizar análises cromatográficas ao longo de todo o experimento;

À Inaê, pela orientação e ajuda prestada para a realização do teste AME;

Aos meus colegas da Turma de 2011 da Ambiental, por todos os momentos que pudemos compartilhar;

Aos meus amigos Marina, Marie, Block, Suki, Larissa, Siri e Torresmo, pela convivência, amizade, diversão, estudo, apoio e companheirismo em todos os momentos, e toda ajuda prestada;

Aos meus amigos espalhados por esse mundo, que apesar da distância e do tempo sem nos vermos, proporcionam ainda muitos momentos bons em cada encontro e sorrisos nas lembranças vividas;

Ao NAPRA, por ter tido a oportunidade de vivenciar um experiência incrível e por ter conhecido pessoas maravilhosas dentro da organização;

À Universidade de São Paulo, por fornecer infraestrutura para a realização da pesquisa e aprendizado durante todos esses anos;

À todas as pessoas que contribuíram e que não foram citadas para a realização desta pesquisa, e mais do que isso, para a minha formação pessoal.

*“Se a destinação final continuar sendo a disposição final,
vamos perder a batalha da sustentabilidade.”*

Gleysson B. Machado

RESUMO

Miyazaki, C.K. **Ativação de lodo anaeróbio para a inoculação de biometanizadores visando o tratamento de resíduos sólidos orgânicos**. 2016. 67 f. Trabalho de conclusão do Curso (Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

Uma das tecnologias que vêm sendo estudada é o uso do lodo, como inóculo para digestão anaeróbia da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos (FORSU). A biometanização utiliza produtos que antes não possuíam valores comerciais e também eram vistos como um problema social, econômico e ambiental, para ao final do processo, gerar um subproduto estabilizado e de valor energético. Para tanto, a digestão anaeróbia enfrenta alguns problemas operacionais por ser uma tecnologia recente. A partida do reator é considerada etapa crucial para um equilíbrio e manutenção dos micro-organismos, nesse sentido, é necessário dar ao meio condições favoráveis para o estabelecimento e desenvolvimento dos microrganismos. No presente trabalho será avaliado a ativação do inóculo antes de introduzi-lo no biometanizador, com a intenção de se obter uma biomassa ativa. A ativação foi feita a partir do uso de diferentes substratos como fonte de alimentação, solução estoque (ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico), etanol e ácido acético, no qual, a quantidade a ser adicionada foi determinada a partir da realização de um teste atividade metanogênicas específica (AME). O inóculo utilizado é o lodo do reator UASB da ETE Monjolinho, localizado na cidade de São Carlos. A temperatura de operação foi mantida na faixa mesofílica ($35\pm 2^{\circ}\text{C}$) através de uma estufa. Foi testado diferentes concentrações de substrato e avaliado o pH, STV, DQO e volume do biogás (medição direta do volume do biogás e cromatografia). O teste com ácido acético e etanol, utilizou a relação A/M de 0,6, e o tratamento com melhor desempenho foi o de etanol, enquanto o teste com solução estoque, ácido acético e etanol, foi utilizado relação A/M de 1,2, o tratamento de etanol obteve o pior desempenho. O tratamento controle evidenciou que os tratamentos com substrato obtiveram uma ativação mais rapidamente. A cromatografia gasosa indicou que alguns tratamentos não produziram metano ou se produziu, não foi significativo, e que, portanto, o volume deslocado pelo Mariotte não representava unicamente o metano. A microscopia óptica, por sua vez, indicou presença de arqueas metanogênicas no lodo inicial e após o teste, sendo a maioria células com formas de bacilos.

Palavras-chave: Substrato. Biomassa ativa. Lodo do reator UASB.

ABSTRACT

Miyazaki, C.K. **Study of activation of the UASB Sludge from ETE Monjolinho using different substrates.** 2016. 67 f. Trabalho de conclusão do Curso (Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

One of the most common alternatives to the allocation of really the sludge in the United States is the agricultural reuse, in Brazil, this use is not well explored and the most common destination is the landfill. One of the technologies that have been studying is the use of sludge as inoculum for anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). The biomethanization use products that did not have commercial value and it is also viewed as a social, economic and environmental problem, to in the end of the process generate a stabilized and energy value by-product. Therefore, anaerobic digestion faces some operational problems to be a new technology. The startup of the reactor is considered crucial step towards a balance and maintenance of microorganisms, in this sense, it is necessary to give favorable conditions for the establishment and development of microorganisms. In this work, it will be assessed activation of the inoculum before introducing it in biomethanizator in order to obtain an active biomass. Activation was performed from the use of different substrates as a power source, the stock solution (acetic acid, propionic acid and butyric acid), ethanol and acetic acid, wherein the amount to be added was determined based on the performance of a test specific methanogenic activity (SMA). The inoculum used is the UASB sludge from ETE Monjolinho, located in São Carlos. The operating temperature was maintained in the mesophilic range (35 ± 2 °C) through an oven. It was tested different concentrations of substrate and rated the pH, STV, COD and biogas volume (direct measurement of biogas volume and chromatography). The three tests, we used the ratio organic load/microorganisms of 0.6, and the treatment was the best performance of ethanol, while the four test was used ratio organic load/microorganisms of 1.2, the treatment of ethanol gave the worst performance. The control treatment showed that the treatment with substrate obtained a faster activation. Gas chromatography indicated that some treatments did not produce methane or produced was not significant; therefore, the volume displaced by Mariotte did not represent only methane. Optical microscopy indicated the presence of methanogenic archaea such in the initial sludge as after the test, most cells with forms of bacilli.

Key-words: Substrate. Active biomass. UASB sludge.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia.....	11
Figura 2: Coleta do lodo do reator UASB da ETE Monjolinho.	12
Figura 3: Materiais do sistema: A - garrafa PET de 2 L; B- espigão macho rosca $\frac{3}{4}$ e adaptador $\frac{3}{4}$ para $\frac{1}{4}$; C- mangueira de silicone.	13
Figura 4: Resistência em formato de U da estufa.	13
Figura 5: Controlador de temperatura e contator da estufa.	14
Figura 6: A- Primeiro dia do funcionamento do reator após o esvaziamento do ar. B- Terceiro dia de funcionamento do reator. C- Quarto dia de funcionamento. D- Décimo dia de funcionamento.	14
Figura 7: Evidência da formação da chama azul.	15
Figura 8: Purga do meio de reação com nitrogênio.	16
Figura 9: Ilustração do meio de reação próximo à tampa da garrafa.	17
Figura 10: Válvula de registro.	17
Figura 11: Reatores mantidos dentro da estufa na temperatura em torno de 35 ± 2 °C.	18
Figura 12: Esquema do aparato experimental para medição de metano.	19
Figura 13: Equipamentos sistema Oxitop – Teste AME.	20
Figura 14: Esquema do aparato experimental para medição de metano.	21
Figura 15: Montagem do experimento com Mariotte.	23
Figura 16: Análise comparativa do pH inicial e de saída do teste prévia de ativação.	30
Figura 17: Análise comparativa do STV inicial e final do teste prévia de ativação – (a) comparação dos STV iniciais e finais, (b) eficiência de remoção de STV.	31
Figura 18: Produção de biogás do teste prévia da ativação – (a) volume de biogás produzido em cada coleta, (b) volume de biogás acumulada em cada reator.	33
Figura 19: Análise comparativa da variação da DQO no decorrer do teste prévia de ativação – (a) Variação da DQO ao longo do experimento. (b) Eficiência de remoção da DQO na 1°, 2° e 3° coleta.	35
Figura 20: Análise comparativa do pH inicial e de saída.	36
Figura 21: Análise do parâmetro sólidos totais voláteis – (a) comparação dos STV iniciais e finais, (b) eficiência de remoção de STV.	38
Figura 22: Produção de biogás – (a) volume de biogás produzido em cada coleta, (b) volume de biogás acumulada em cada reator.	39
Figura 23: STV inicial e final do tratamento controle indicando o possível consumo do substrato remanescente e a biomassa microbiana.	42

Figura 24: Produção de metano através da leitura da cromatografia gasosa	43
Figura 25: Microscopia de contraste de fase do lodo do reator UASB da ETE. A) Bacilo. B) Vibrião. C) Bacilo delgado.....	47
Figura 26: Microscopia de fluorescência do lodo de esgoto da ETE de São Carlos/SP. A) Massa microbiana fluorescente. B) Vibriões fluorescentes.....	48
Figura 27: Microscopia de contraste de fase do lodo após o término do teste. A) Bacilos.....	49
Figura 28: Microscopia de fluorescência após o término do teste. A) Massa microbiana fluorescente.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proporções de lodo e substrato utilizada na ativação	15
Tabela 2 - Quantidade de substrato adicionado em cada tratamento para o teste prévia da ativação.....	22
Tabela 3 - Concentrações do substrato para adição nos reatores.	24
Tabela 4 – Quantidade de substrato na primeira, segunda e terceira adição.	24
Tabela 5 - Cronograma das análises realizadas para o teste com solução estoque, ácido acético e etanol.....	25
Tabela 6 - Resultados da caracterização inicial da primeira e segunda coleta do lodo do reator UASB	27
Tabela 7 - Parâmetros e o resultados do teste AME do lodo da primeira coleta para a relação A/M de 0,6.....	28
Tabela 8 - Parâmetros e resultados do teste AME do lodo da segunda coleta para a relação A/M de 1; 0,5; 1,2 e 0,8.....	29
Tabela 9 – Valores de pH antes e após a correção e as respectivas quantidades de alcalinizantes adicionadas.....	30
Tabela 10 – Valores de pH antes e após a correção e as respectivas quantidades de alcalinizantes adicionadas.....	37
Tabela 11 - Distribuição percentual dos gases no biogás	43
Tabela 12 - Análise comparativa entre a produção de biogás pelo Mariotte e sua composição de gases.....	45
Tabela 13: Resultados Teste AME.	58
Tabela 14: Volume de biogás produzido no Teste Mariotte invertido com realização da purga.	59
Tabela 15: Volume de biogás produzido no Teste Mariotte invertido sem realização da purga	59
Tabela 16: Resultados do pH inicial e final, juntamente com os valores da correção, do teste com adição dos substratos etanol e ácido acético.....	60
Tabela 17: Resultados do STV (g/L) inicial e final do teste com adição dos substratos etanol e ácido acético.	60
Tabela 18: Resultados da produção de biogás do teste com adição dos substratos etanol e ácido acético	60
Tabela 19: Estimativa da DQO de entrada do teste com adição dos substratos etanol e ácido acético.....	60
Tabela 20: Resultados da DQO em cada coleta do teste com adição dos substratos etanol e ácido acético.	61

Tabela 21: Resultados do pH inicial e final, juntamente com os valores da correção, do teste com adição dos substratos solução estoque, etanol e ácido acético.	62
Tabela 22: Resultados da produção de biogás da 1ª e 2ª coleta teste com adição dos substratos solução estoque, etanol e ácido acético.	62
Tabela 23: Resultados da produção de biogás da 3ª coleta teste com adição dos substratos solução estoque, etanol e ácido acético	63
Tabela 24: Resultados do STV de saída do teste com adição dos substratos solução estoque, etanol e ácido acético.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária

ABRELPE – Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais

AME – Atividade Metanogênica Específica

AGV - Ácidos Graxos Voláteis

COT – Carbono Orgânico Total

DQO – Demanda Química de Oxigênio

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ETE – Estação de Tratamento de Esgoto

FORSU – Fração orgânica de Resíduos Sólidos Urbanos

NTK - Nitrogênio Total Kjeldahl

LPB – Laboratório de Processos Bioquímicos

PNRS – Política Nacional de Resíduos Sólidos Urbanos

RSU – Resíduos de sólidos urbanos

SANEPAR - Companhia de Saneamento do Paraná

UASB – Upflow Anaerobic Sludge Blanket

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	3
2.1	Objetivo Geral	3
2.2	Objetivos Específicos	3
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1	Produção e disposição final de lodo de esgoto	4
3.1.1	<i>Alternativas para o aproveitamento e/ou disposição final do lodo</i>	5
3.2	Inoculação de sistemas anaeróbios aplicados a FORSU	7
3.3	Partida de reatores anaeróbios	8
3.3.1	<i>Importância da partida do reator</i>	8
3.3.2	<i>Ativação dos microrganismos</i>	9
3.4	Fonte de alimentação para o inóculo	10
4	MATERIAIS E MÉTODOS	12
4.1	Coleta e caracterização do lodo de esgoto	12
4.2	Testes preliminares	12
4.2.1	<i>Teste do reator</i>	12
4.2.2	<i>Mariotte invertido com realização da purga</i>	15
4.2.3	<i>Mariotte invertido sem realização da purga</i>	19
4.3	Teste de Atividade Metanogênica Específica (AME)	19
4.4	Testes de Ativação do inóculo	20
4.4.1	<i>Substratos: ácido acético e etanol</i>	20
4.4.2	<i>Substratos: ácido acético, etanol e solução estoque de ácidos</i>	23
4.5	Análises físico-químicas	25
4.6	Microscopia óptica de fluorescência e microscopia de contraste de fase.....	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
5.1	Caracterização físico-químicas	27
5.2	Testes preliminares	28
5.3	Teste Atividade Metanogênica Específica (AME)	28
5.4	Testes de ativação do inóculo	29
5.4.1	<i>Substratos: ácido acético e etanol</i>	29
5.4.2	<i>Substratos: ácido acético, etanol e solução estoque de ácidos</i>	36
5.5	Cromatografia gasosa	42
5.6	Microscopia óptica: fluorescência e microscopia de contraste de fase	46
6	CONCLUSÕES	51
7	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	53
	REFERÊNCIAS	54
	Apêndice A – Resultados do Teste AME.....	58
	Apêndice B – Resultados dos Testes Preliminares.....	59
	Apêndice C – Resultados do teste com adição dos substratos etanol e ácido acético.....	60

Apêndice D - Resultados do teste com adição dos substratos etanol, ácido acético e solução estoque de ácidos	62
Apêndice E – Cromatografia Gasosa	64
Anexo A – Metodologia para o teste AME	65
Anexo B – Análise da fração sólida da Demanda Química de Oxigênio (DQO)	67

1 INTRODUÇÃO

O crescimento populacional é acompanhado do aumento do número de estações de tratamento de esgoto (ETEs), que por sua vez, cresce proporcionalmente a quantidade gerada de lodo de esgoto. O tratamento de esgoto resulta em dois produtos: o efluente líquido tratado que atenda às exigências legislativas e o lodo (primário e secundário) que é um material pastoso com grande concentração de micro-organismos, sólidos orgânicos e minerais.

O estudo do lodo envolve o processamento e a disposição final do lodo, etapas limitante em uma ETE, pois podem representar até 60% do custo operacional de uma ETE (VON SPERLING, 2001). As alternativas para a destinação do lodo envolvem: uso agrícola, usos florestais, descarte em aterros sanitários, reúso industrial incinerado, incineração, recuperação de solo e disposição oceânica (Tsutiya, 2002).

O aproveitamento do lodo já é feito nos Estados Unidos, sendo o reúso agrícola o método mais empregado, no Brasil as alternativas de reúso ainda são pouco utilizadas e a destinação mais comum é o aterro sanitário. No entanto, o simples aterramento é um procedimento que provoca perdas de matéria-prima e gera riscos de contaminações futuras, sendo portanto, importante viabilizar novas alternativas tecnológicas que possa valorizar o lodo de esgoto. Uma das tecnologias que ganha destaque é a digestão anaeróbia da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos (FORSU) com o uso do lodo, como fonte para diminuição do tempo de estabilização da matéria orgânica. O tratamento anaeróbio, conhecido também como biometanização, possibilita a utilização de dois produtos que antes eram descartados em aterros sanitários, considerados rejeitos, sem valor comercial e visto como um problema social, econômico e ambiental. Além disso, o processo de biometanização apresenta-se como uma possibilidade conveniente no contexto atual, pois atende às exigências da Política Nacional de Resíduos Sólidos de não aterrar a matéria orgânica, incentivando o reaproveitamento dos resíduos sólidos orgânicos, através do tratamento desses resíduos e a recuperação energética.

Todavia, a biometanização, por ser uma tecnologia recente, ainda enfrenta diversas dificuldades operacionais com longos períodos de estabilização. Para um bom funcionamento do sistema anaeróbio deve-se adotar medidas para obter uma partida do reator que mantenha o equilíbrio no sistema. Nesse início de operação, o inóculo precisa estar metabolicamente ativo

para que se possa otimizar a digestão anaeróbia e contornar os possíveis desequilíbrios microbianos.

A presente pesquisa teve como objetivo o estudo da ativação dos micro-organismos, no qual adicionou-se ao inóculo diferentes tipos de substratos como fonte de alimentação: solução estoque (ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico), o etanol e o ácido acético. Os ensaios experimentais foram mantidos em estufa com temperatura de 35 ± 2 ° C e avaliaram o comportamento de cada reator frente à adição dos substratos através da caracterização dos parâmetros: pH, DQO, STV, volume e composição do biogás. O estudo da diversidade microbiana foi feita a partir da técnica de microscopia de contraste de fase e de fluorescência.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Verificar qual substrato (ácido acético, solução estoque de ácidos e etanol), em qual concentração e em quanto tempo proporcionaria a melhor condição de ativação do lodo do reator UASB da Estação de Tratamento de Esgoto Monjolinho.

2.2 Objetivos Específicos

- Definir a melhor relação alimento/micro-organismo (A/M) a partir do teste Atividade Metanogênica Específica (AME);
- Caracterização morfológica dos micro-organismos por meio da microscopia óptica de contraste de fase e identificação da presença de arqueas metanogênicas com microscopia de fluorescência.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Produção e disposição final de lodo de esgoto

Nas áreas urbanas, devido ao crescimento desordenado, as cidades cresceram sem infraestrutura e sem disponibilidade de saneamento básico capazes de atender a demanda de toda a população. Nesse contexto, ainda há alguns anos atrás, a maioria das cidades brasileiras lançavam seus esgotos sanitários diretamente nos corpos hídricos. Frente à intensa degradação ambiental, os esgotos começaram a ser tratados por estações de tratamento de esgotos (ETEs). Nesse sistema, as águas residuárias sofrem diversos processos de tratamento para que possa retornar aos mananciais de forma à atender aos padrões de qualidade da água. Durante as etapas de tratamento, ocorre geração de um resíduo semissólido, que contém tipicamente água e sólido granuloso, flocoso e coloidal, chamado de lodo de esgoto. É importante diferenciar o termo “lodo” e “biossólidos”, comumente confundidos. À rigor, o “lodo” é o subproduto sólido gerado do tratamento de esgotos. Enquanto que “biossólidos” são os resíduos sólidos, produtos orgânicos, que podem ser utilizados para beneficiar o uso agrícola, como um processo de estabilização e compostagem (Andreoli et al., 2006).

Segundo Metcalf e Eddy (1991), o gerenciamento do lodo de esgoto foi e continua sendo um dos maiores problemas e uma das etapas mais caras de todos os processos do tratamento de águas residuárias. Estima-se que a produção de lodo no Brasil está entre 150 a 220 mil toneladas de matéria seca por ano. A taxa da população brasileira que possui seu esgoto coletado e tratado chega a apenas 30%. Caso os esgotos fossem totalmente tratados no país, a geração de lodo superaria 1000 toneladas de lodo por dia (SOARES, 2004). Na região metropolitana de São Paulo, área com a maior parte das estações de tratamento de esgotos do Brasil, estima-se que haverá uma produção cerca de 749 toneladas por dia em base seca para o ano de 2015 (TSUTIYA, 2000). No estado do Paraná a produção de lodo em 1999 era de 67 toneladas por dia e em 4 anos esse número dobrou (PEDROZA *et al.*, 2010). Segundo Pegorini et al. (2003), a produção de lodo de esgoto em 2003, na ETE Belém em Curitiba, era em torno de 9,6 toneladas de matéria seca por dia. A previsão é de que a produção deve aumentar entre 6 a 8,4 toneladas de matéria seca por dia em curto prazo.

Além disso, Khiari et al. (2004) citam que o tratamento da fase sólida de uma ETE aeróbia representa, aproximadamente, 40 % dos custos de implantação, 50% dos custos de operação e

90% dos problemas operacionais. Em um metabolismo aeróbio ocorre uma maior formação do lodo comparado com o sistema anaeróbio, e isso explica a grande quantidade de lodo a ser descartado nos sistemas de lodos ativados. Enquanto que os sistemas anaeróbios, geralmente, possuem uma produção baixa de lodo, encontrado estabilizado, logo, caracteriza-se como um sistema vantajoso quanto à produção e disposição final do lodo (Metcalf e Eddy, 1991). Portanto, o gerenciamento do lodo, por ser uma das etapas cruciais na ETE, exige uma atenção necessária para a minimização, aproveitamento e tratamento do lodo, bem como planejar uma disposição segura e ambientalmente aceitável.

3.1.1 Alternativas para o aproveitamento e/ou disposição final do lodo

O aproveitamento e/ou disposição final dos biossólidos vem ganhando destaque dentro do cenário das ETEs, em razão do aumento da produção de lodo e da necessidade de se atender às exigências ambientais. Diversas alternativas são propostas para que a disposição seja feita de forma segura e ambientalmente aceitável, pode-se destacar as seguintes alternativas (TSUTIYA, 2002):

- Uso agrícola: aplicação no solo como fertilizante;
- Usos florestais: aplicação em plantações florestais;
- Descarte em aterros sanitários: aterro exclusivo e co-disposição com resíduos sólidos urbanos (RSU);
- Reuso industrial incinerado: produção de agregado leve, fabricação de tijolos e cerâmicas e produção de cimento;
- Incineração: incineração exclusiva;
- Recuperação de solo: recuperação de áreas degradadas e recuperação de áreas de mineração;
- Disposição oceânica;

No mundo, mais de 90% do lodo gerado é disposta por meio de três processos: incineração, disposição em aterros e uso agrícola. O uso agrícola é a forma predominante de

disposição final desse resíduo, adotado para aproximadamente 55,5% do lodo produzido nos Estados Unidos, devendo alcançar 61,5% até 2010 (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - EPA, 1999). Na Europa, a reciclagem e a disposição em aterros sanitários são as principais formas de destinação (DAVIS & HALL, 1997). No Brasil, a disposição final do lodo geralmente é o aterro sanitário (TSUTIYA, 2002).

A disposição em aterros exclusivos requer cuidados especiais em relação à seleção de um local que cumpra as exigências ambientais e sociais, as características de projeto que evitem riscos de vazamento do lixiviado, a coleta dos gases gerados e ao tratamento do chorume produzido, bem como tomar os devidos cuidados para evitar a proliferação de vetores. A reciclagem agrícola possibilita a produção de insumo de qualidade a agricultura, através da escolha de áreas e culturas aptas, com a instrução técnica adequada ao produtor rural e realizando o monitoramento ambiental. O uso de biossólidos na agricultura é visto como uma forma rentável capaz de garantir o interesse contínuo dos agricultores e, conseqüentemente, a sustentabilidade do processo (ANDREOLI *et al.*, 2001). Assim, a alternativa de reciclagem agrícola mostra-se promissora especialmente para o Brasil, onde é necessário a reposição do estoque de matéria orgânica dos solos devido ao intemperismo de suas condições climáticas (PROSAB e SANEPAR, 1999).

Dessa forma, a quantidade de lodos disposto em aterro sanitário tende a se reduzir devido às restritas exigências ambientais (ANDREOLI *et al.*, 2001). A qualidade do lodo utilizado na agricultura deve ser assegurada, de modo que promova melhorias às qualidades físicas, químicas e biológicas do solo, sem risco de contaminações. Segundo a Resolução Conama n°375/2006, os lodos podem ser passíveis de aplicação na agricultura se forem submetidos a redução de patógenos e da atratividade de vetores, além de atender aos limites de substâncias potencialmente tóxicas. Assim, o biossólido pode ser utilizado em culturas de contato primário com o solo, se o lodo tiver sido submetido a tratamentos que garantam uma redução dos patógenos.

Ademais, segundo a instrução normativa n°17/2014 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, os resíduos de biodigestores a serem usados como fertilizantes e corretivos em sistemas orgânicos de produção possuem as seguintes condições: é permitido desde que seu uso e manejo não causem danos à saúde e ao meio ambiente, devem estar bioestabilizados, e é proibido o contato com partes comestíveis das plantas e os resíduos de biodigestores não devem receber excrementos humanos. Para sistemas não orgânicos, é

permitido somente com a autorização do OAC (organismos de avaliação da conformidade) ou da OCS (organização de controle social).

Outra forma de aproveitamento do lodo que vem sendo explorada recentemente é o tratamento anaeróbio da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos (FORSU). Nesse caso o lodo é utilizado para inoculação no sistema, possibilitando a redução do tempo de estabilização desses resíduos. A biometanização ou digestão anaeróbia é a degradação biológica da matéria orgânica por um consórcio microbiano anaeróbio. O principal subproduto do processo é o biogás, gás energético constituído principalmente por metano e dióxido de carbono. A biometanização ganha destaque dentro de um cenário mundial como alternativa tecnológica para, ao invés de enterrar o resíduo, valorizar tanto produtos que antes eram considerados rejeitos, como a recuperação energética. Esta demanda é particularmente importante, devido a produção crescente do lodo e da FORSU, sendo a matéria orgânica responsável por cerca de 50% em peso total dos RSU coletados em cidades brasileiras (ABRELPE, 2012). Desta maneira, é necessário soluções definitivas para seu manejo e aproveitamento. Além disso, a biometanização entra em consonância com as diretrizes e objetivos da Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), na qual proíbe o aterramento da matéria orgânica e incentiva o reaproveitamento dos resíduos, inclusive a recuperação energética através de tecnologias sustentáveis.

3.2 Inoculação de sistemas anaeróbios aplicados a FORSU

Segundo Souto (2005), o ecossistema anaeróbio não se instala imediatamente após o início da operação do reator. É necessário um período, as vezes demorado, para que a comunidade microbiana possa crescer e levar o sistema a um equilíbrio (METCALF; EDDY, 1991). Dessa forma, o uso do inóculo é importante pois tem por função reduzir o tempo de estabilização, proporcionar o equilíbrio da relação C/N, diluir os compostos tóxicos, aumentar a densidade microbiana, tamponar a carga orgânica aplicada e potencializar a produção de biogás por volume de digestor (BARCELOS, 2009; FORSTER-CARNEIRO, PÉREZ, ROMERO, 2007; GRIFFIN *et al.*, 1998; KHALID *et al.*, 2011; SOUTO, 2005). Em relação à origem do inóculo, destacam-se como fontes: lodo de esgoto, estrumes, resíduos industriais, resíduos agrícolas, culturas, entre outros (MATA-ALVAREZ *et al.*, 2011).

Segundo Abreu *et al.* (2006), 80% dos inóculos escolhidos para serem usados no processo de biogás utilizam lodos provenientes de reatores UASB, devido as seguintes vantagens:

- Alta relação de sólidos totais e sólidos totais voláteis (SVT/ST), sendo em torno de 77% (ABREU, 2003);
- É uma fonte de massa microbiana anaeróbia para o biometanizador, apesar de isso não significar que existirá um ecossistema anaeróbia após a colocação dos resíduos no reator, mas sim, existirá condições propícias para o crescimento e desenvolvimento dos microrganismos (LEITE *et al.*, 2003);
- Apresentam concentrações de nitrogênio maiores que a FORSU, podendo equilibrar a relação C/N do meio (LEITE *et al.*, 2003);
- Apresenta um pH próximo ao neutro, em torno de 6,7 - 6,72 (RAMOS, 2008).

3.3 Partida de reatores anaeróbios

3.3.1 Importância da partida do reator

A partida de um biodigestor é o início do processo que envolve a inoculação do reator, a aclimatação do lodo ao resíduo e as condições de carga e vazão específicas para esta fase de adaptação. Segundo Stronach, Rudd e Lester (1987), a partida do reator é considerada crucial no processo, pois caso operada de forma inadequada acarreta em um mau funcionamento do sistema. O início do processo é um regime transiente, onde acontece mudanças nas condições de cultivo e, portanto, pode haver a inibição das arqueas metanogênicas (SCHIMIDELL *et al.*, 1986).

Segundo Rittmann e McCarty (2001), a partida e operação de um sistema anaeróbio requerem um balanço entre microrganismos hidrolíticos/fermentativos e metanogênicos. Ademais, Casserly Erijman (2003) afirmaram que a capacidade de assimilação orgânica da digestão anaeróbia depende da quantidade de biomassa ativa retida no reator.

O desequilíbrio na partida do reator pode ser causada pela diferença do rendimento energético e taxa de crescimento entre as bactérias acidogênicas e as metanogênicas. A primeira possui uma taxa média de crescimento de $2,0 \text{ d}^{-1}$, enquanto que as arqueas metanogênicas de $0,4 \text{ d}^{-1}$ (HENZE E HERREMÕES, 1983). Portanto, a taxa global do processo é controlada pelas metanogênicas, demandando um período maior de crescimento e

reprodução. Respostas instáveis do sistema anaeróbio podem ser ocasionados por uma baixa atividade das arqueas metanogênicas em relação à de bactérias fermentativas, com reduzido uso de acetato, H_2 e CO_2 , e, conseqüentemente, acumulando AGV e diminuindo o pH (CASSERLY; ERIJMAN., 2003).

3.3.2 Ativação dos microrganismos

A partida do reator, muitas vezes, requer o uso de estratégias para a otimização de seu funcionamento, como por exemplo a inoculação do resíduo com lodo anaeróbio. Durante à digestão anaeróbia, o inóculo necessita de ambientes adequados para o seu crescimento e eficiência na produção de biogás. Um dos desafios no estudo de comunidades procariontes é avaliar a capacidade do inóculo em se adaptar ao tipo de resíduo e às condições de operação.

Quando uma população microbiana é inoculado em um novo meio, seu crescimento é iniciado somente após um período de tempo, denominado fase lag (Gráfico 1). Esse período de tempo pode ser curto ou longo, dependendo do inóculo e das suas condições de crescimento. A fase lag é observada quando o inóculo possui poucas células vivas ou sofreram algum tipo de dano, mas não foram mortas, como mudança brusca de temperatura, radiação ou compostos químicos tóxicos (MADIGAN et al.,2016). Dessa forma, a ativação dos micro-organismos consiste em vencer a fase lag e iniciar o crescimento celular.

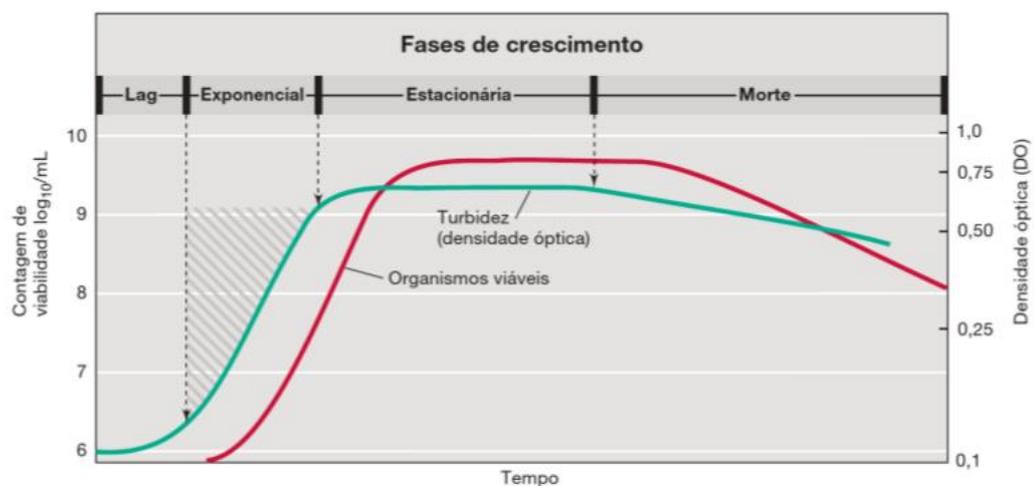


Gráfico 1: Curva de crescimento típica de uma população bacteriana. A contagem de viáveis mede as células presentes na cultura capazes de se reproduzir. A densidade óptica mede a quantidade da dispersão de luz por uma cultura líquida, aumenta de acordo com o aumento do número de células.

Fonte: Madigan et al. (2016)

Portanto, inicialmente, o inóculo precisa estar metabolicamente ativo para poder otimizar o processo da partida do reator e contornar problemas operacionais durante o tratamento anaeróbio. Em muitos casos em que a biomassa não se encontra ativa, é necessário um estudo de uma aclimação para se conseguir uma biomassa adaptada e ativa através de uma fonte de alimentação. A fonte de carbono mantém o inóculo alimentado, tornando-o preparado para quando for adicionado ao reator (SILVA et al.,2013).

3.4 Fonte de alimentação para o inóculo

A escolha de uma fonte de carbono como substrato para ativação dos microrganismos deve ser feita analisando-se as etapas metabólicas da digestão anaeróbia (Figura 1). Segundo Effebe et al. (2011) a degradação da matéria orgânica é convertido em metano e gás carbônico a partir de diversas reações bioquímicas. Os principais subprodutos formados pela bactérias acidogênicas são os ácidos orgânicos de cadeia curta butirato, propionato de etila e acetato. O acetato é consumido pelas metanogênicas acetoclásticas formando CO_2 e CH_4 . O substrato usado para a determinação da atividade acidogênica é geralmente a glicose, considerada a principal via de oxidação, enquanto que para as acetogênicas são os ácidos propiônicos, butírico e etanol, e para as arqueas metanogênicas o ácido acético é considerado fundamental na cinética do processo pela sua produção e consumo.

Para a completa fermentação de compostos orgânicos complexos em metano, cada grupo de micro-organismos tem uma função específica. No processo de fermentação dos carboidratos e proteínas, 30% é transformado em ácido propiônico, antes que possa ser convertido em metano. O ácido acético é o ácido intermediário mais abundante, sendo formado por todos os compostos orgânicos complexos. A formação do metano no sistema provém 72% do ácido acético e, juntamente com o ácido propiônico, de cerca de 85% da produção total de metano. Os 15% restantes é resultante da degradação de outros ácidos, como o fórmico e butírico (CHERNICHARO, 1997).

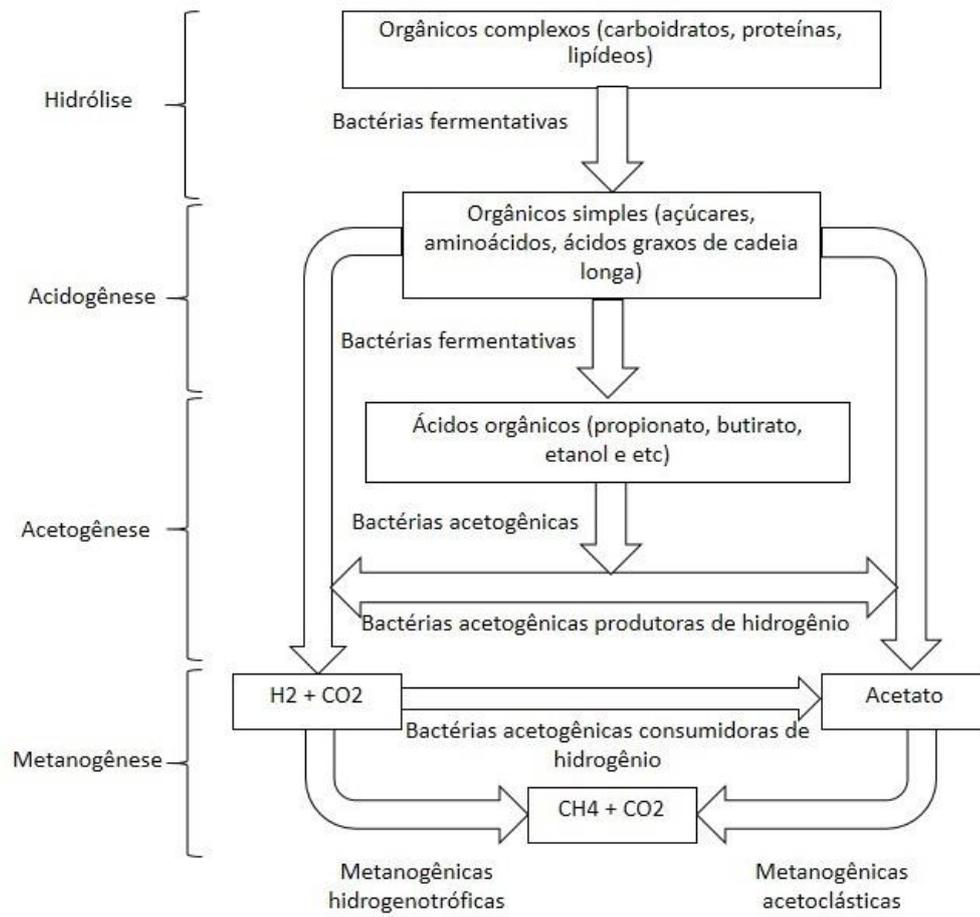


Figura 1: Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia

Fonte: adaptado de Lettinga et al., 1996

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta e caracterização do lodo de esgoto

Foram coletados 20 L (Figura 2) de lodo do reator UASB da Estação de Tratamento de Esgoto Monjolinho, situado na cidade de São Carlos/SP. Esta ETE consiste em dois módulos de reatores UASB, sendo que cada módulo é composto por quatro reatores e possui capacidade de tratar todo o esgoto gerado pelo município com uma vazão média de 650 L/s.



Figura 2: Coleta do lodo do reator UASB da ETE Monjolinho.

Fonte: Próprio autor.

4.2 Testes preliminares

4.2.1 Teste do reator

O experimento inicial foi realizado para verificar se o lodo produziria biogás e se o recipiente, que será utilizado como simulador de reatores em batelada, suportaria a pressão gerada pelo gás. Como reator, foi utilizada uma garrafa PET de 2 L: na tampa da garrafa foi acoplada um espigão macho rosca $\frac{3}{4}$ e um adaptador $\frac{3}{4}$ para $\frac{1}{4}$, no qual foi conectada uma mangueira de silicone (Figura 3).

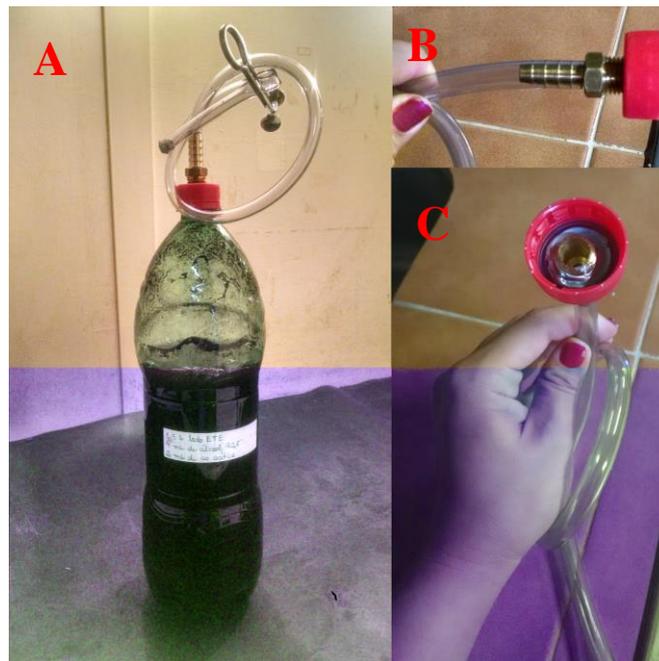


Figura 3: Materiais do sistema: A - garrafa PET de 2 L; B- espigão macho rosca $\frac{3}{4}$ e adaptador $\frac{3}{4}$ para $\frac{1}{4}$; C- mangueira de silicone.

Fonte: Próprio autor.

Os equipamentos utilizados na estufa para manter a temperatura foram:

- 3 resistência em formato de U (Figura 4);
- Controlador de temperatura digital KOEL K48EHCRR 100-240 VCA (Figura 5);
- Contator WEG 9.10 NA 220V' (Figura 5)



Figura 4: Resistência em formato de U da estufa.

Fonte: Próprio autor.



Figura 5: Controlador de temperatura e contator da estufa.

Fonte: Próprio autor.

Foi preenchida 75% da capacidade total do reator, utilizando-se 1500 mL de lodo da ETE. Como substratos, foram adicionados 4 mL de álcool 92,8% e 2 mL de ácido acético. O reator foi mantido em uma estufa na temperatura média de $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 10 dias (Figura 6).



Figura 6: A- Primeiro dia do funcionamento do reator após o esvaziamento do ar. B- Terceiro dia de funcionamento do reator. C- Quarto dia de funcionamento. D- Décimo dia de funcionamento.

Fonte: Próprio autor.

Vale ressaltar que, diariamente, o reator foi agitado manualmente para misturar do meio de reação. Passados os dez dias, o recipiente estava inflado (produção de biogás), demonstrando que houve atividade microbiana. Dessa forma, a garrafa PET suportou a pressão exercida pelo gás, e assumiu-se que seria adequado sua utilização para os próximos

experimentos. Além disso, com o intuito de se verificar a presença do gás metano, foi queimado o gás e, houve um aparecimento de uma chama azul, portanto, indicador gás metano (Figura 7).

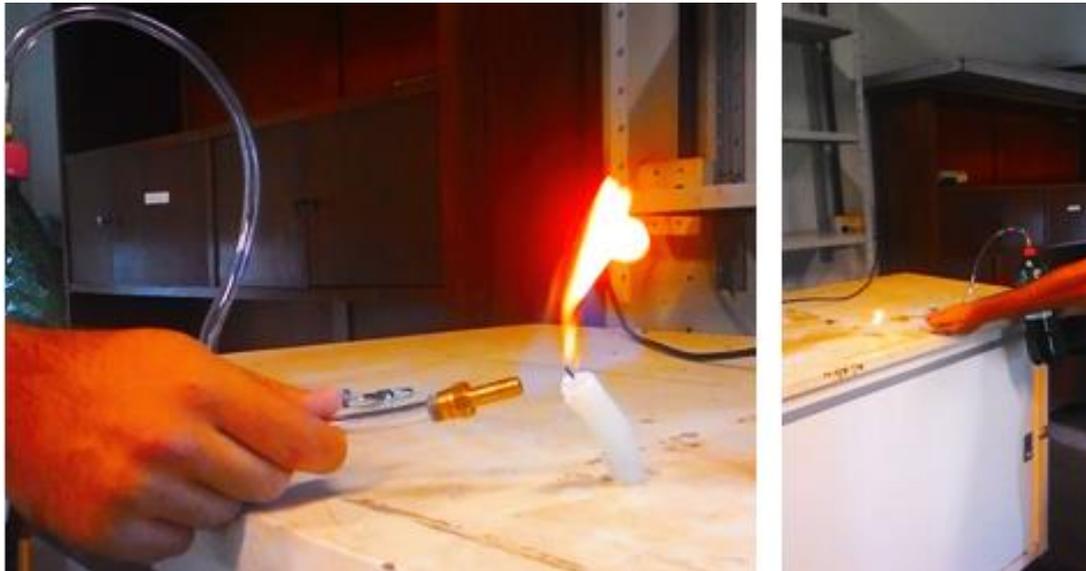


Figura 7: Evidência da formação da chama azul.

Fonte: Próprio autor.

4.2.2 *Mariotte invertido com realização da purga*

A fonte de carbono mais comum é a glicose, no entanto, a fim de garantir o desenvolvimento de bactérias acetogênicas e das metanogênicas, utilizou-se como substratos o etanol e o ácido acético.

Cada biometanizador foi constituído com diferentes proporções de lodo, etanol e ácido acético (Tabela 1). Contrera (2008) indicou a adição de 2 mL de etanol, assim, foi testado também a mesma dosagem de ácido acético, bem como a adição dos dois substratos em conjunto com 1 mL de cada.

Tabela 1 - Proporções de lodo e substrato utilizada na ativação

Tratamento	Lodo anaeróbio de ETE	Etanol	Ácido acético
1	1 L	2 mL	-

2	1 L	-	2 mL
3	1 L	1 mL	1 mL

Após a adição dos substratos, foi realizada a purga com nitrogênio (Figura 8) do meio de reação no LPB; a garrafa foi comprimida para a retirada os gases do headspace até que o meio de reação ficasse próximo à tampa da garrafa (Figura 9) e a válvula do registro foi fechada (Figura 10). Este procedimento foi realizado a fim de eliminar o máximo possível de oxigênio do reator.



Figura 8: Purga do meio de reação com nitrogênio.

Fonte: Próprio autor.

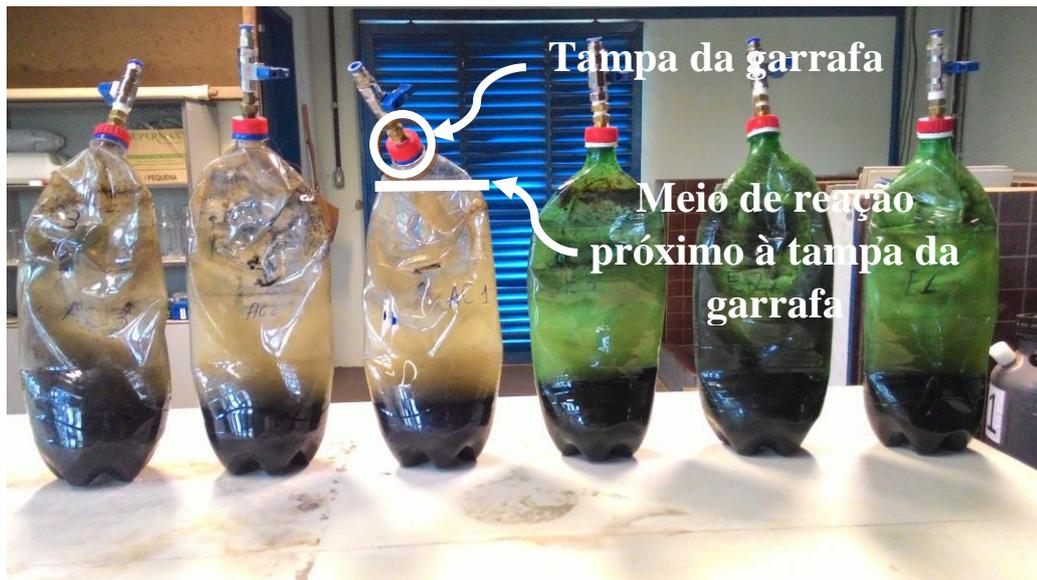


Figura 9: Ilustração do meio de reação próximo à tampa da garrafa.

Fonte: Próprio autor.



Figura 10: Válvula de registro.

Fonte: Próprio autor.

Em seguida, os reatores foram mantidos em uma estufa, como demonstrada na Figura 11 na temperatura em torno de 35 ± 2 °C, com monitoramento do volume do gás produzido a cada 12 horas.

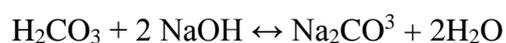
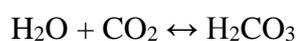


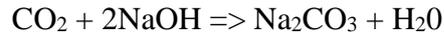
Figura 11: Reatores mantidos dentro da estufa na temperatura em torno de 35 ± 2 °C.

Fonte: Próprio autor.

O método utilizado para medir o volume de metano consistiu na abertura da válvula do registro, onde o biogás percorreu a mangueira até atingir o Mariotte invertido que possui uma solução de NaOH para reagir com CO_2 . A despressurização do frasco em incubação faz com que haja uma expulsão de solução de NaOH contida no frasco de Mariotte, que corresponde ao volume deslocado pelo metano (Figura 12).

Esse procedimento pressupõe que o CO_2 e o CH_4 são os principais gases constituintes do biogás formados durante o teste. As reações que ocorrem entre a solução de NaOH e o CO_2 são:





Logo, teoricamente, a solução de NaOH é capaz de reagir com o CO₂ e o líquido deslocado até o béquer consistiu no volume de apenas metano. A solução de NaOH foi preparada com 30 g NaOH e o restante, completou-se com água destilada até atingir o volume total de 1 L (Rocha *et al.*, 2001).

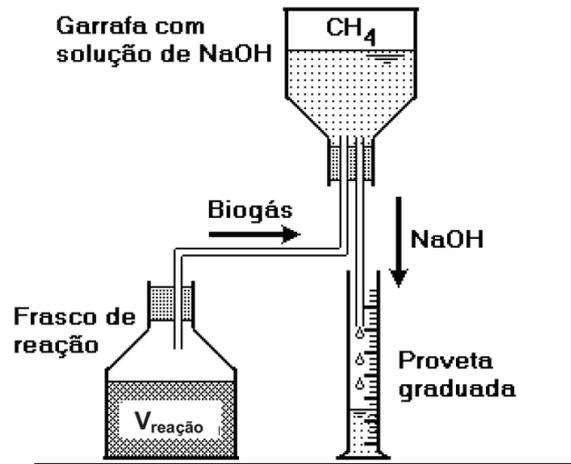


Figura 12: Esquema do aparato experimental para medição de metano.

Fonte: Aquino *et al.* (2007).

4.2.3 Mariotte invertido sem realização da purga

Durante a realização do teste 1 notou-se que algumas garrafas estavam vazando líquido e verificou-se que a tampa não estava bem vedada. Logo, trocou-se as garrafas sujeitas à falhas e foi realizado um novo teste, sendo que nesse novo teste não foi feito a purga do líquido devido à dificuldade de deslocamento e perda de temperatura do reator até o local onde foi realizado a purga. No entanto, a fim de minimizar os riscos de erros no sistema o ideal seria a realização da purga. Em seguida, adicionou-se os substratos e agitou-se o conteúdo durante dois minutos. O reator foi mantido na estufa e a medição do volume foi realizado a cada 12 horas durante cinco dias.

4.3 Teste de Atividade Metanogênica Específica (AME)

O teste AME permite avaliar a capacidade máxima de produção de metano pelos microrganismos presentes no sistema a partir do controle em laboratório de condições

favoráveis ao seu crescimento, garantindo excesso de substrato (introdução de substratos como fonte de carbono de fácil assimilação) e ambiente próprio para as metanogênicas, como: temperatura adequada e meio nutricional. A determinação de AME pode ser demonstrado de diversas maneiras, sendo o Oxitop um método manométrico mecânico que se baseia na medição da pressão exercida sobre o sensor acoplado no topo do frasco de reação. Durante a digestão anaeróbia, o consumo de matéria orgânica produz metano, com conseqüente aumento da pressão do gás no headspace. O equipamento Oxitop (Figura 13) permite a quantificação, leitura e monitoramento da pressão no frasco de forma instantânea e automática.



Figura 13: Equipamentos sistema Oxitop – Teste AME.

Fonte: Borges (2004)

O procedimento foi feito em triplicata seguindo o protocolo proposto por Martins (2015) com algumas adaptações indicados no Anexo A.

4.4 Testes de Ativação do inóculo

4.4.1 Substratos: ácido acético e etanol

Verificou-se que o uso do Mariotte invertido estava sujeito à falhas na operação. O monitoramento da geração do metano consistiu na abertura do registro para liberação do gás, e quando o gás não gerava pressão positiva suficiente para deslocamento do líquido no Mariotte, a força da gravidade fazia com que o líquido fosse em direção ao reator. Dessa forma, quando o líquido voltava para o reator, o meio era alterado, e conseqüentemente, os resultados poderiam estar incertos. Além disso, durante o período que não houve coleta de

metano, o béquer que coletava o volume deslocado do líquido de NaOH apresentava algumas gotas, demonstrando uma falha no sistema. Logo, optou-se por realizar um novo teste com o uso do Mariotte tradicional (Figura 14).

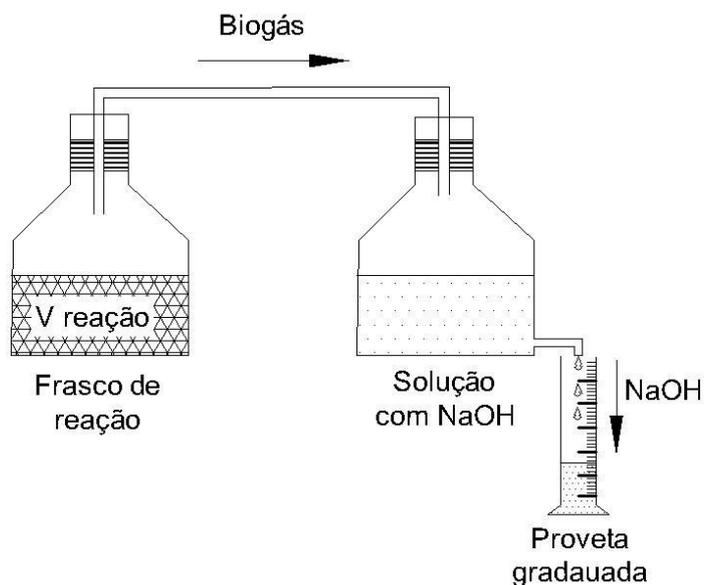


Figura 14: Esquema do aparato experimental para medição de metano.

Fonte: Próprio autor.

O experimento exigiu uma nova coleta de lodo do reator UASB e, conseqüentemente, uma nova caracterização físico-química. Notou-se que o lodo encontrava-se mais concentrado que o da primeira coleta, assim diluiu-se até atingir a concentração de 25 gSTV/L. Em seguida foi adicionado na garrafa PET o lodo diluído, o substrato e o extrato de levedura.

O extrato de levedura atua como uma fonte de vitaminas que contribui para o crescimento celular e, como atuam também como fonte de coenzimas, auxilia na formação de sistemas enzimáticos ativos (MADIGAN *et al.*, 2016). Segundo Aquino *et al.* (2007) a quantidade de extrato de levedura adequado para processos anaeróbicos é de 50 mg/L.

Em relação a solução de NaOH, nos testes preliminares ela encontrava-se muito diluída (3%), portanto adotou-se a recomendações de Aquino *et al.* (2007) de preparo de uma solução de 15%. Sendo, adicionado 150 g NaOH e 1L de água destilada.

Vale lembrar que nesse experimento foi utilizado a relação alimento/ microrganismo de 0,6 para determinar a quantidade de lodo e de substrato a ser adicionada. No caso, 5g de STV de lodo consomem 3g DQO/L, portanto, 25g STV de lodo (STV inicial) consomem um

máximo de 15gDQO/L. Assim, o cálculo foi feito para cada substrato a partir da divisão do consumo máximo de 15gDQO/L pela DQO do substrato. A adição do substrato foi feita com carga total e em distribuição de (½ carga + ½ carga) e (1/3 carga + 1/3 carga + 1/3 carga). No tratamento Ac1 (ácido acético com carga total) foi adicionado 10 mL de ácido acético no início do funcionamento do reator, no Ac2 (ácido acético com ½ carga + ½ carga) foi adicionado 5 mL no início e mais 5 mL após três dias e Ac3 (ácido acético com 1/3 carga + 1/3 carga + 1/3 carga) foi adicionado 3,33 mL no início do reator, mais 3,33 mL após três dias e por fim, foi adicionado mais 3,33 mL após 5 dias. O mesmo procedimento foi feito para o etanol. A Tabela 2 mostra a quantidade de substrato adicionado em cada tratamento.

Tabela 2 - Quantidade de substrato adicionado em cada tratamento para o teste prévia da ativação.

Tratamento	Substrato	Adição do substrato	Quantidade de substrato calculado (mL)	Quantidade de substrato utilizado (mL) ⁽¹⁾
Ac1		carga total	9.8	10
Ac2	Ácido acético	(1/2 carga + 1/2 carga)	4.9 + 4.9	5 + 5
Ac3		(1/3 carga + 1/3 carga + 1/3 carga)	3.26 + 3.26 + 3.26	3.33 + 3.33 + 3.33
E1		carga total	7.9	8
E2	Etanol	(1/2 carga + 1/2 carga)	3.95 + 3.95	4 + 4
E3		(1/3 carga + 1/3 carga + 1/3 carga)	2.63 + 2.63 + 2.63	2.66 + 2.66 + 2.66

(1) Quantidade de substrato com valores aproximados.

Antes de fechar o reator, o pH foi medido e caso estivesse abaixo de 6,5 (reator deve ser operado em pH entre 6,5 e 8,2 (SPEECE (1996))), seria necessário a adição de um alcalinizante para sua correção. Após o preparo dos reatores, foi eliminado o headspace, fechado a válvula do registro e encaminhados para a estufa.

A medição do volume do biogás nesse experimento foi similar ao sistema de Mariotte invertido. Conectou-se a mangueira no registro, e ele foi aberto onde o gás se deslocava naturalmente pela pressão (Figura 15). O volume no béquer foi medido, agitou-se a garrafa, e retirou-se uma amostra do meio de reação de 50 mL, que foram encaminhados ao laboratório para a análise de DQO e pH. Essa coleta foi realizado no 4º, 9º e 12º dia, sendo que na última análise foi retirado 100 mL de amostra de cada tratamento para medir sólidos.



Figura 15: Montagem do experimento com Mariotte.

Fonte: Próprio autor.

4.4.2 *Substratos: ácido acético, etanol e solução estoque de ácidos*

Um novo experimento foi realizado em duplicata com 14 reatores, sendo 4 reatores com adição do substrato etanol, 4 reatores com adição do substrato ácido acético, 4 reatores com adição da solução estoque de ácidos (acético, propiônico e butírico) e 2 reatores para o controle. Nos testes anteriores notou-se que o preenchimento da garrafa em 1 L deixava um headspace de 50%, logo, com o intuito de reduzir o volume do headspace e diminuir o tempo para coleta, adicionou-se 70% do volume do meio de reação.

Nesse experimento, o cálculo da adição do substrato foi realizado baseado na relação A/M de 1,2, onde 2,5g STV de lodo consomem 3 gDQO/L. Como o lodo possui uma concentração de 37,5 gSTV, o consumo máximo de substrato é de 45 gDQO/L. A solução estoque de ácidos é composta por 3 ácidos, portanto, foi atribuído uma porcentagem de adição a cada um deles para totalizar 45gDQO/L. A alimentação do substrato no reator foi feito a

cada seis dias, sendo que para cada substrato o tratamento foi alimentado com (1/2 carga+1/2 carga) (correspondente a 22,5 gDQO/L em cada adição) e (1/3 carga+1/3 carga+1/3 carga) (15 gDQO/L em cada adição), como indicado na Tabela 3. Os reatores foram preenchidos com 1,5 L de lodo diluído (900 mL de lodo e 600 mL de água destilada), 75 mg de extrato de levedura e substrato.

Tabela 3 - Concentrações do substrato para adição nos reatores.

		DQO (g/L)	Volume (mL)		Volume (mL) Solução Estoque equivalente a 45gDQO/L	%
Ácido acético	Solução Estoque de Ácidos (S)	1532			13.2	0.45
Ácido propiônico		1840.5	13.0	8.7	7.3	0.30
Ácido butírico		2040.9			5.5	0.25
Etanol 92,8°	Etanol (E)	1908	11.8	7.9	23.6	1
Ácido acético	Ácido Acético	1532	14.7	9.8	29.4	1

A Tabela 4 indica a quantidade de substrato na primeira, segunda e terceira adição, respectivamente.

Tabela 4 – Quantidade de substrato na primeira, segunda e terceira adição.

Tratamentos	Substratos (mL)									Extratato de levedura (mg)		
	Solução Estoque			Ácido Acético			Etanol			1° adição	2° adição	3° adição
	1° adição	2° adição	3° adição	1° adição	2° adição	3° adição	1° adição	2° adição	3° adição			
ETE-S1 e ETE-S1'	13	13	-	-	-	-	-	-	-	75	-	-
ETE-S2 e ETE-S2'	8.7	8.7	8.7	-	-	-	-	-	-	75	-	-
ETE-A1 e ETE-A1'	-	-	-	14.7	14.7	-	-	-	-	75	-	-
ETE-A2 e ETE-A2'	-	-	-	9.8	9.8	9.8	-	-	-	75	-	-
ETE-E1 e ETE-E1'	-	-	-	-	-	-	11.8	11.8	-	75	-	-
ETE-E2 e ETE-E2'	-	-	-	-	-	-	7.9	7.9	7.9	75	-	-
ETE-BR1 e ETE-BR1'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	75	-	-

Após o preparo do meio de reação, os reatores foram agitados manualmente por cerca de 1 minuto, e foi medido o pH. A garrafa foi comprimida até que o líquido do meio de reação se encontrasse próximo ao registro, eliminando o ar inteiro.

Nesse teste, foi realizado a medição da composição dos gases a partir da análise de cromatografia gasosa. A análise foi feita antes de se medir o volume do metano e não houve agitação prévia. A cromatografia gasosa foi realizado para a primeira e terceira coleta. A metodologia de medição do volume do CH₄ e da coleta da amostra foi feita igual ao teste anterior. A Tabela 5 mostra o cronograma das análises realizadas para esse teste.

Tabela 5 - Cronograma das análises realizadas para o teste com solução estoque, ácido acético e etanol.

Análises	Terça (1° Adição)	Quinta	Segunda (2° Adição)	Sexta	Segunda (3° Adição)	Sexta (Final)
	19/07	21/07	25/07	29/07	01/08	05/08
	11:00h	11:00h	11:00h	11:00h	11:00h	11:00h
DQO inicial	•					
pH inicial	•					
Coleta			•		•	
Adição*	•		•		•	
DQO antes da adição			•		•	
pH antes da adição			•		•	
pH após adição			•		•	
Biogás (V)		•	•	•	•	•
Cromatografia (%)		•	•	•	•	•
STV final						•
DQO final						•
pH final						•

4.5 Análises físico-químicas

As análises físico-química foram realizadas para a caracterização lodo inicial, durante e ao fim do processo de ativação. Os parâmetros das nas análises físico-química são: sólidos totais, sólidos totais voláteis, sólidos totais fixos, teor de umidade, densidade, alcalinidade, pH, demanda química de oxigênio (DQO), carbono orgânico total (COT), nitrogênio total kjeldahl (NTK).

Todas as análises físico-químicas foram realizadas na Escola de Engenharia de São Carlos – Área I, Universidade de São Paulo, nos Laboratórios de Saneamento, com exceção do Nitrogênio, Carbono e Hidrogênio elementares, que foram realizados na Embrapa. As análises realizadas na USP seguiram as recomendações indicadas pelo Standard Methods for

Examination of Water and Wastewater (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA, 2012), salvo a análise da fração sólida da DQO, que encontra-se no Anexo B. Enquanto que as análises da Embrapa, seguiram os procedimentos do equipamento utilizado.

A avaliação do biogás de forma qualitativa foi feita a partir da cromatografia gasosa, onde as garrafas foram levadas ao Laboratório de Processos Biológicos, localizado na Área II, na Escola de Engenharia de São Carlos (Universidade São Paulo) e a amostra foi retirada dos reatores através de uma seringa com trava, onde o gás é injetado no cromatógrafo para avaliar a composição do biogás produzido em porcentagem de metano, gás carbônico, nitrogênio e gás sulfídrico.

4.6 Microscopia óptica de fluorescência e microscopia de contraste de fase

As microscopias ópticas de contraste de fase e de fluorescência do lodo do reator UASB foram realizados no Laboratório de Processos Biológicos, localizado na Área II, na Escola de Engenharia de São Carlos (Universidade São Paulo).

Fixação da amostra para a observação microscópica

Para fixar a amostra sobre a lâmina, colocou-se uma camada de ágar 2%, deixando-o secar por 10 minutos. Em seguida, uma gota de amostra concentrada foi colocada sobre o ágar com o auxílio de uma pipeta *Pasteur*, recobrimo-a com uma lamínula. Aguardou-se 30 minutos para a secagem e então foi realizada a visualização em microscópio (Microscópio Olympus BX60).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização físico-químicas

Na primeira coleta do lodo de reator UASB foi realizado a caracterização dos parâmetros: sólidos totais, sólidos totais fixos, sólidos totais voláteis, teor de umidade, DQO, densidade, pH, alcalinidade, COT e NTK. Após terminado o lodo da primeira coleta, realizou-se uma segunda coleta e uma nova caracterização, sendo que foram analisados os seguintes parâmetros: sólidos totais, sólidos totais fixos, sólidos totais voláteis, sólidos suspensos totais, sólidos suspensos voláteis, pH e alcalinidade. Os resultados da primeira e segunda coleta foram apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Resultados da caracterização inicial da primeira e segunda coleta do lodo do reator UASB

Lodo do reator UASB		
Parâmetros analíticos	1° Coleta	2° Coleta
Sólidos totais (g/L)	244,8	70,9
Sólidos totais fixos (g/L)	106,8	29,4
Sólidos totais voláteis (g/L)	138	41,5
Teor de umidade (%)	95,65	-
DQO (g/L)	0,408	-
Densidade (g/L)	1000	-
pH	7,15	6,65
Alcalinidade (mg/L)	2018,6	1156,4
COT (%)	29,33	-
NTK (%)	3,6	-
Carbono (%)	29,33	-
Hidrogênio (%)	3,55	-
Nitrogênio (%)	3,6	-
Relação C/N	9,5	-

Os resultados indicaram que o lodo possui um teor de umidade de 95% e somente 5% de sólidos totais, favorecendo a manutenção da umidade em tratamentos anaeróbios. Em relação aos sólidos totais, os fixos fazem referência dos componentes inorgânicos, enquanto que os voláteis de orgânicos. Nota-se que há uma predominância de sólidos totais voláteis em ambas as coletas, indicando uma quantidade de matéria biodegradável superior à matéria inorgânica.

Os valores do pH desejados em um tratamento anaeróbio estão geralmente entre 6,7 e 8,0, logo, o pH encontrado no lodo encontrou-se adequado. Segundo Grady e Lim (1980), na maioria dos casos, uma alcalinidade total entre 2500 e 5000 mgCaCO₃/L é suficiente para se obter um adequado poder de tampão no sistema, no entanto a alcalinidade do lodo encontrou-se abaixo do ideal. Assim, os dois lodos encontram-se abaixo do valor adequado, propiciando quedas bruscas de pH em caso da presença de ácidos em excesso.

5.2 Testes preliminares

Os resultados dos testes preliminares com o uso do Mariotte invertido com e sem purga encontram-se no Apêndice B.

5.3 Teste Atividade Metanogênica Específica (AME)

O primeiro ensaio do teste AME foi realizado com o lodo da primeira coleta. A determinação da relação alimento/microrganismo (A/M) foi feito segundo Penna, Vazoller e Campos (1995), que mostrou que para testes de AME com lodo de esgoto sanitário, nas concentrações iniciais de 5,2 e 10 gSSV/L, os melhores valores de A/M ficaram na faixa de 0,3 a 0,5 gDQO/gSSV. Como a concentração inicial do lodo coletado foi de 24,52 gSTV/L, optou-se pela utilização da relação A/M de 0,6. Assim, para 3 gDQO/L de alimento foi utilizado uma concentração de 5 gSTV/L. A quantidade de lodo adicionado no ensaio foi de 20,39 g, obtido a partir equação 1 (Anexo A). A Tabela 7 indica os parâmetros e o resultado do teste AME para a relação A/M de 0,6.

Tabela 7 - Parâmetros e o resultados do teste AME do lodo da primeira coleta para a relação A/M de 0,6.

Concentração STV (mg/L)	0,02452
Inóculo STV (g/L)	5
Volume (L)	0,1
Temperatura (°C)	35
Alimento DQO (g/L)	3
Massa de Lodo (g)	20,39
Resultado (gDQO/gSSV*d)	0,126

A segunda coleta do lodo demandou um novo teste AME e novas relações A/M foram testadas. Os resultados indicaram que a primeira relação A/M de 0,6 foi subestimada e os micro-organismos do lodo do reator UASB possuíam um potencial maior de consumo de substrato. Foram testadas as relação 1, 0,5, 1,2 e 0,8, e o melhor resultado do teste AME foi a relação 1,2 com 0,21 gDQO/gSSV*d. A Tabela 8 indica os parâmetros e o resultado do teste AME para a relação A/M de 1; 0,5; 1,2 e 0,8.

Tabela 8 - Parâmetros e resultados do teste AME do lodo da segunda coleta para a relação A/M de 1; 0,5; 1,2 e 0,8.

Ensaio	Concentração (gSTV/L)	Alimento (gDQO/L)	Inóculo (gSTV/L)	Relação A/M	Massa de lodo (g)	Resultado (gDQO/gSSV*d)
1	25	3	3	1	12	0.209
2	25	3	6	0.5	24	0.141
3	25	3	2.5	1.2	20	0.21
4	25	3	3.75	0.8	30	0.167

No entanto, vale ressaltar que, apesar dos testes de AME serem importantes na classificação do potencial da biomassa na conversão de substratos solúveis em gases como o metano e o gás carbônico, outros fatores devem ser considerados na digestão anaeróbia como, por exemplo, a biodegradabilidade da matéria orgânica a ser tratada (quantidade da fração facilmente degradável) e a capacidade de adaptação dos micro-organismos ao substrato (PINTO, 2006).

5.4 Testes de ativação do inóculo

5.4.1 Substratos: ácido acético e etanol

As Figura 16, 17, 18 e 19 representam os resultados obtidos dos parâmetros no decorrer do teste: pH, sólidos totais voláteis, produção de metano e DQO.

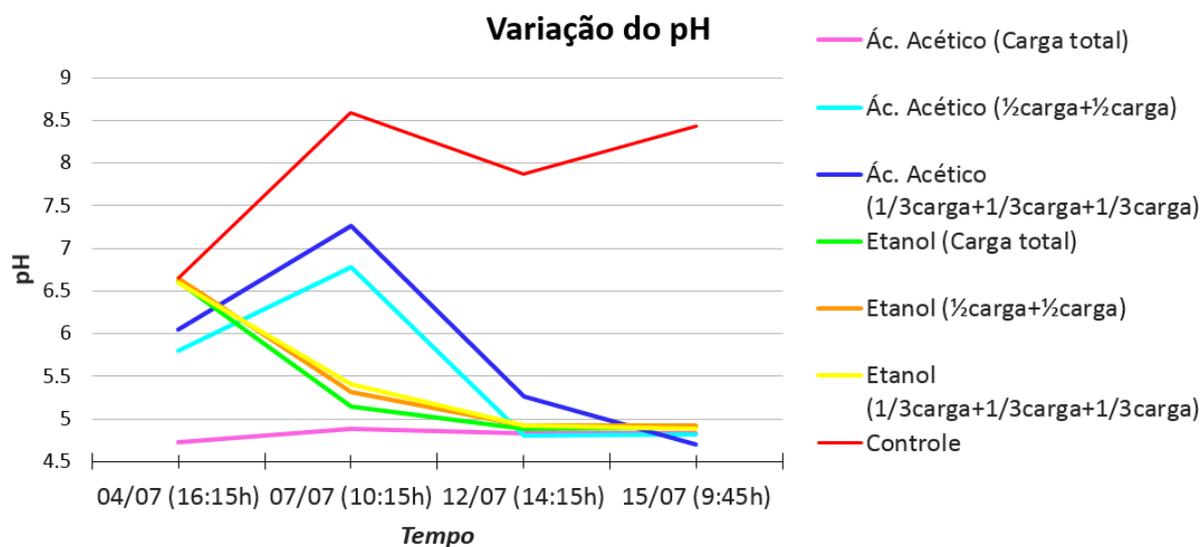


Figura 16: Análise comparativa do pH inicial e de saída do teste prévia de ativação.

O pH foi corrigido para todos os reatores que foram adicionados ácido acético. Os alcalinizantes utilizados foram o NaHCO_3 e o KHCO_3 (Tabela 9), os tratamentos com etanol não foram corrigidos, pois o pH inicial já se encontrava na faixa ideal da digestão anaeróbia (valores indicados no Apêndice C). O cálculo da quantidade de alcalinizante foi baseado nos níveis ditos inibitórios: $3500\text{-}5500 \text{ mg.L}^{-1}$ para sódio (VAN BUREN, 1979) e 2500 mg.L^{-1} para potássio (PARKIN; OWEN, 1986). Contudo, mesmo adicionado a quantidade máxima de alcalinizante, o tratamento Ac1 e Ac2 entraram no meio com um pH abaixo de 6, com 4,73 e 5,8, respectivamente.

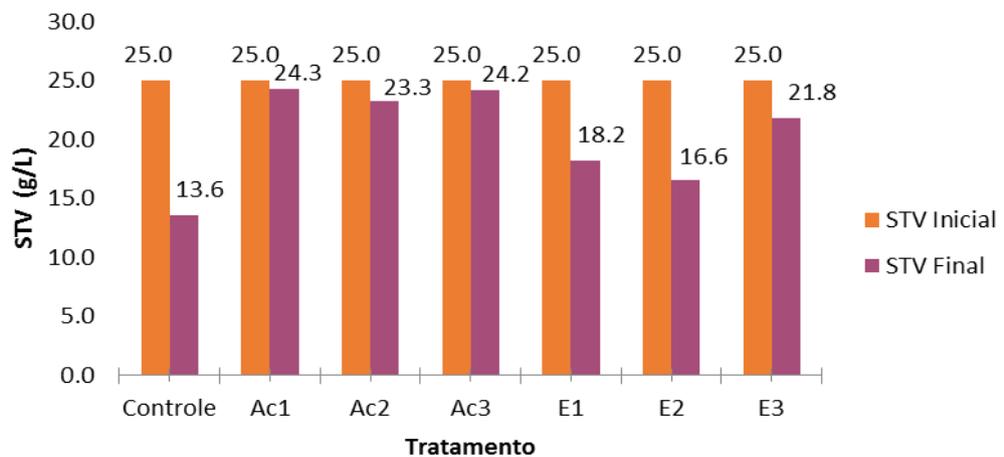
Tabela 9 – Valores de pH antes e após a correção e as respectivas quantidades de alcalinizantes adicionadas.

Tratamento	pH inicial	NaHCO_3 (g)	KHCO_3 (g)	pH de entrada
Ac1 (Ácido acético com Carga total)	3.78	5.14	2.47	4.73
Ac2(Ácido acético com ½ carga+ ½ carga)	4.04	5.14	2.47	5.8
Ac3(Ácido acético com 1/3 carga+ 1/3 carga +1/3 carga)	4.11	5.14	2.47	6.05

O tratamento Ac1 (ácido acético com carga total) manteve o pH constante durante o experimento entre a faixa de 4,73 e 4,88. O Ac2 (ácido acético com ½ carga+ ½ carga) e o Ac3 (ácido acético com 1/3 carga+ 1/3carga+ 1/3 carga) tiveram um aumento no pH na primeira coleta, com 6,78 e 7,27, respectivamente, porém houve uma queda na segunda coleta e uma estabilização no final. Os tratamentos E1 (etanol com carga total), E2 (etanol com ½

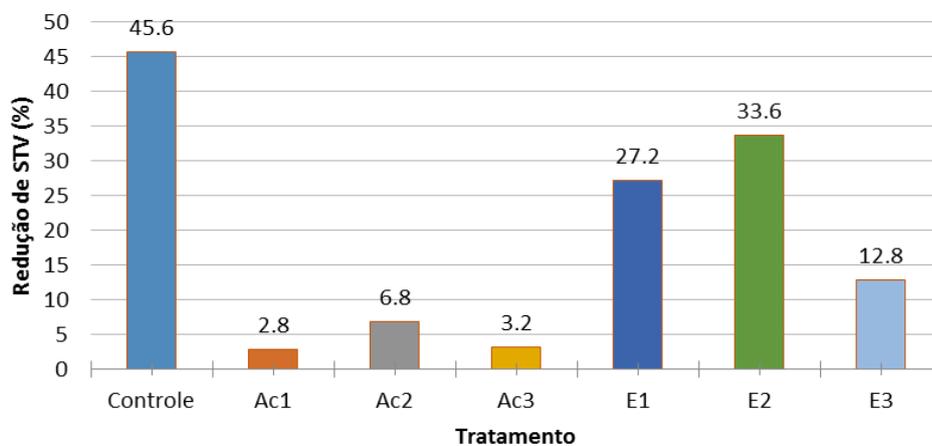
carga+ ½ carga) e E3 (etanol com 1/3 carga+ 1/3carga+ 1/3 carga) tiveram o comportamento de valores do pH bem similares, iniciando com 6,6 e ao decorrer do tempo houve uma gradativa queda até alcançar o pH de 4,9. O tratamento controle na primeira coleta o pH já se encontrava alto, com 8,59 e nas coletas seguintes o pH manteve-se acima de 7,5, com 7,87 e 8,43, na segunda e terceira coleta, respectivamente. Para os tratamentos com ácido acético a distribuição da alimentação em três cargas obteve o melhor desempenho, enquanto que, para o etanol não houve influência a alimentação distribuída. O tratamento controle teve uma faixa de pH acima da ideal para o crescimento de metanogênicas.

Sólidos Totais Voláteis



(a)

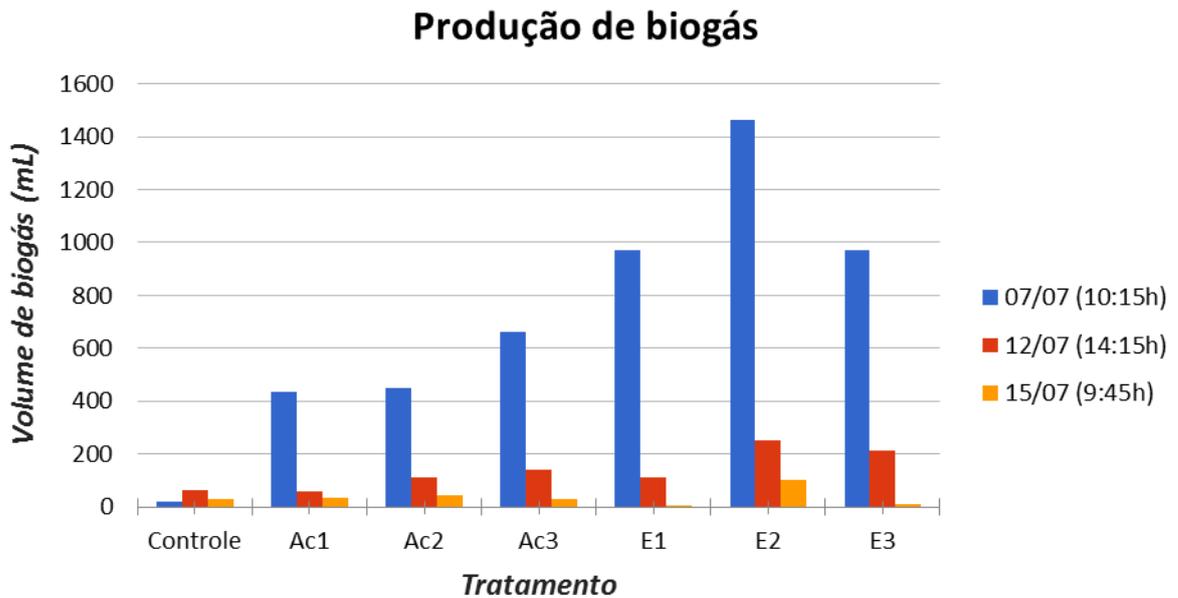
Porcentagem de redução de STV



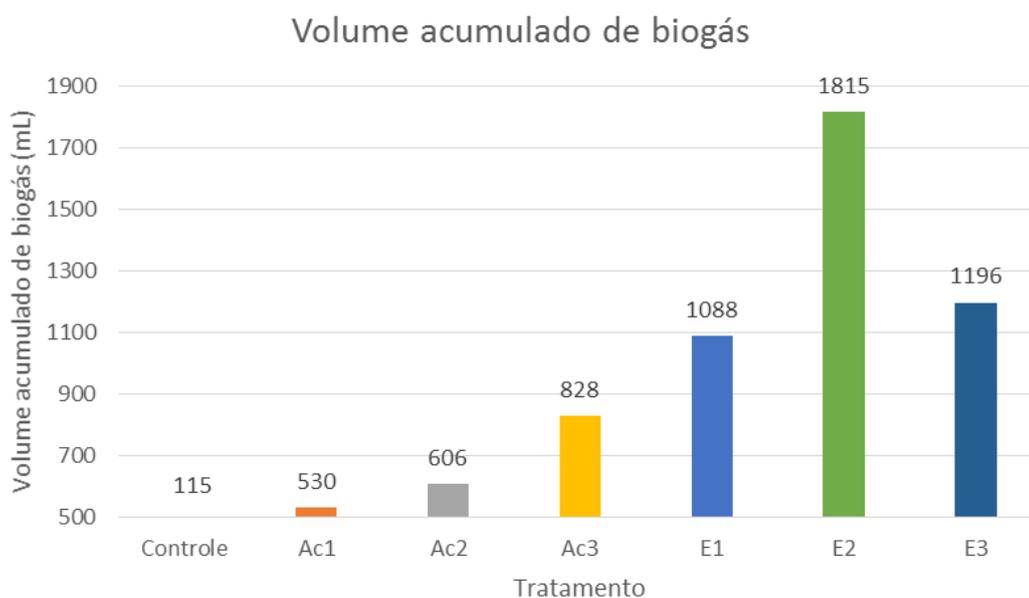
(b)

Figura 17: Análise comparativa do STV inicial e final do teste prévia de ativação – (a) comparação dos STV iniciais e finais, (b) eficiência de remoção de STV.

O STV representa a biomassa (micro-organismos presentes) mais o substrato orgânico remanescente contido no lodo passível de ser degradado. Todos os tratamentos tiveram uma redução de STV, sendo que os tratamentos com ácido acético tiveram uma queda menor que o etanol. Os três reatores do ácido acético (Ac1, Ac2 e Ac3) possuíram um comportamento semelhante, com uma diminuição percentual de 2,8, 6,8 e 3,2, respectivamente. Nesse caso, as diferentes alimentações em bateladas nos reatores não influenciaram no comportamento do STV. Os tratamentos E1 e E2 tiveram as maiores diminuições da biomassa, com 18,2 e 16,6 g/L de STV final, e com uma redução de 27,2 e 33,6% do STV final em relação ao STV inicial, enquanto que o E3 apresentou um STV final de 21,8 g/L, reduzindo em 12,8% de STV. O STV final do controle foi de 13,6 g/L, indicando que havia substrato remanescente no lodo ou redução da biomassa de micro-organismos por inibição do meio.



(a)



(b)

Figura 18: Produção de biogás do teste prévia da ativação – (a) volume de biogás produzido em cada coleta, (b) volume de biogás acumulada em cada reator.

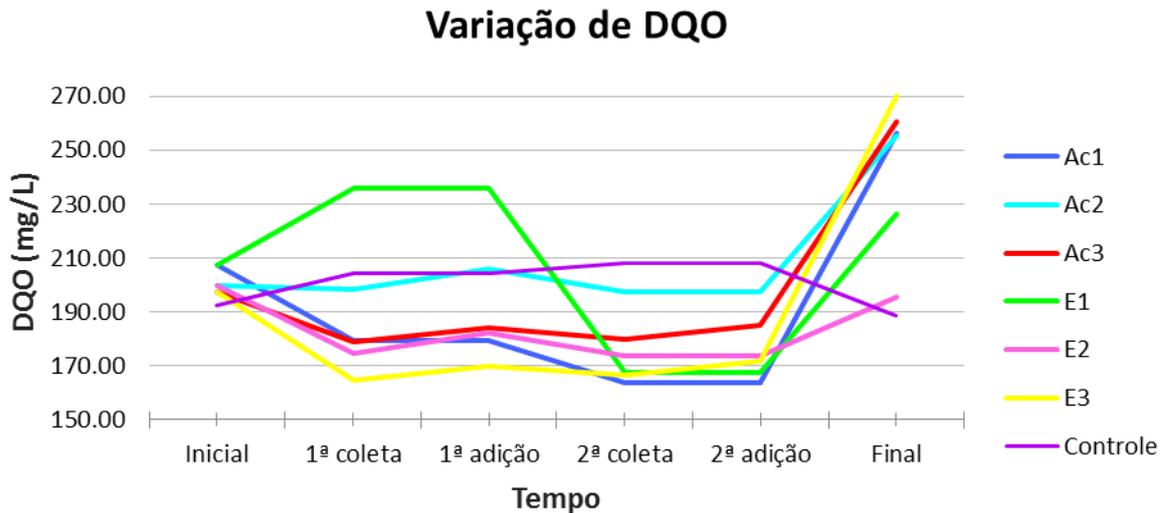
A Figura acima mostra que todos os tratamentos tiveram seu pico de produção na primeira coleta. O gráfico de produção de biogás indica o consumo de substrato mostrado no Gráfico 1. A primeira coleta do biogás demonstra que a comunidade microbiana foi ativada, saindo da fase lag e iniciando a próxima etapa, chegando a produzir o pico máximo da fase exponencial. A segunda coleta evidencia um início de uma queda da produção de biogás, pois provavelmente foi consumido todo o substrato presente no meio ou houve algum processo de inibição dos microrganismos.

Os tratamentos com ácido acético produziram 435 (Ac1), 450 (Ac2) e 660 (Ac3) mL de biogás na primeira coleta, com uma redução significativa na segunda coleta, com 60 (Ac1), 110 (Ac2) e 140 (Ac3) mL e na última coleta, 35 (Ac1), 46 (Ac2) e 28 (Ac3) mL. O volume acumulados de biogás do Ac1, Ac2 e Ac3 foram, respectivamente, 530, 606 e 828 mL. Assim, o Ac3 mostrou-se o tratamento com o melhor desempenho comparando-se com o Ac1 e Ac2.

O etanol produziu uma quantidade de biogás muito maior que o ácido acético, na primeira coleta foi produzido 970 (E1), 1465 (E2) e 970 (E3) mL de biogás. Na segunda coleta a produção diminuiu, 110 (E1), 250 (E2) e 215 (E3) mL, e na terceira coleta produziu-se 8 (E1), 100 (E2) e 11 (E3) mL. Os três tratamentos com etanol tiveram um volume

acumulado de biogás maior que 1000 mL, com 1088 (E1), 1815 (E2) e 1196 (E3) mL. O E2 foi o reator que acumulou a maior quantidade de biogás e também o que perdeu a maior quantidade de biomassa, ou seja, a alimentação em duas bateladas com o substrato etanol deu condições favoráveis para o equilíbrio microbiano produzir biogás e degradar ou o substrato adicionado ou a matéria orgânica remanescente.

O tratamento controle evidenciou que houve redução de quase 50% de STV e produção de biogás não significativa, com produção total acumulada de 115 mL. O volume da segunda coleta foi o mais expressivo, e demonstrou que, tratamentos com substrato obtiveram uma ativação mais rapidamente do que sem substrato. O controle produziu uma quantidade menor de biogás na primeira coleta e demorou mais para sair da fase lag.



(a)

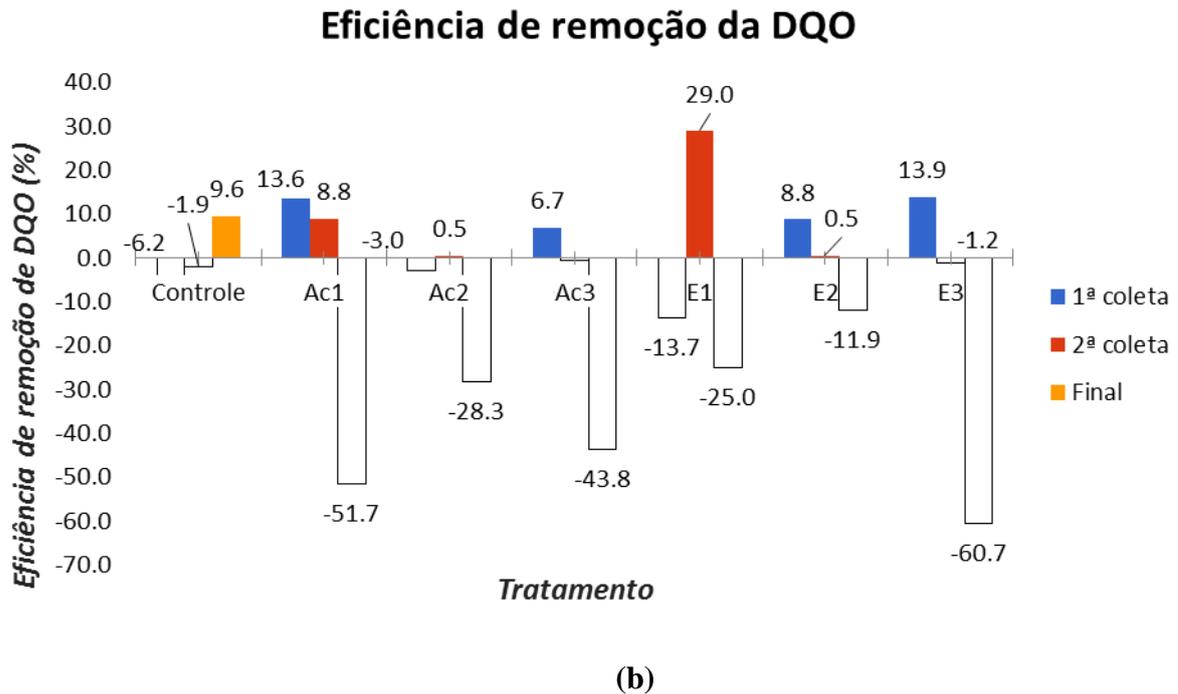


Figura 19: Análise comparativa da variação da DQO no decorrer do teste prévia de ativação – (a) Variação da DQO ao longo do experimento. (b) Eficiência de remoção da DQO na 1ª, 2ª e 3ª coleta.

A DQO inicial foi estimada a partir da soma da DQO do lodo com DQO do substrato, considerando a quantidade de substrato adicionado. Para cada coleta de amostra, foi somado a DQO sólida e da líquida, e após a adição do substrato, foi somado a DQO desse substrato.

Na primeira coleta, a DQO tanto do Ac1 e Ac3 tiveram uma remoção de 13,6 e 6,7%, enquanto que o Ac2 houve um aumento de 3%. Já na segunda coleta, a eficiência de remoção da DQO manteve-se praticamente nula, com 8,8 (Ac1), 0,5 (Ac2) e -0,5 (Ac3) %. Na última coleta, a DQO aumentou significativamente, 256,11 (Ac1), 255,38 (Ac2) e 260,41 (Ac3) mg/L, indicando que houve acúmulo de ácido, observado pelo pH, e que, portanto, o ambiente ácido favoreceu uma inibição dos micro-organismos. Em um primeiro momento, o ambiente favoreceu o consumo da DQO, no entanto, na terceira coleta, o sistema não deu condições favoráveis para esse consumo

O tratamento E1, na primeira coleta, houve um aumento da concentração da DQO para 235 mg/L, enquanto que a concentração da DQO do E1 e E2 foram 174,69 e 164,83 mg/L, com eficiência de remoção de 8,8 e 13,9%, respectivamente. Na segunda coleta o E1 teve a maior eficiência de remoção de DQO com 29%. Na última coleta todos os tratamentos com etanol tiveram um enorme aumento da DQO.

A DQO do tratamento controle não teve oscilações grandes, com 192,19, 204,7, 208,02 e 188,52 g/L, no início, na 1ª coleta, 2ª coleta e 3ª coleta, respectivamente. Houve consumo da DQO apenas no final do experimento, com uma eficiência de remoção de 9,6%. Logo, o substrato remanescente foi degradado pelas bactérias hidrolíticas, acetogênicas e acidogênicas, porém as condições ambientais não favoreceram o crescimento das arqueas metanogênicas, evidenciado pela baixa produção de biogás.

5.4.2 Substratos: ácido acético, etanol e solução estoque de ácidos

Nesse teste foram avaliados os seguintes parâmetros: pH, STV e produção de biogás (através do volume e do cromatógrafo). As Figura 20, 21, 22 e 23 representam uma análise comparativa dos parâmetros pH, sólidos totais voláteis finais e volume de biogás nos 17 dias de experimento.

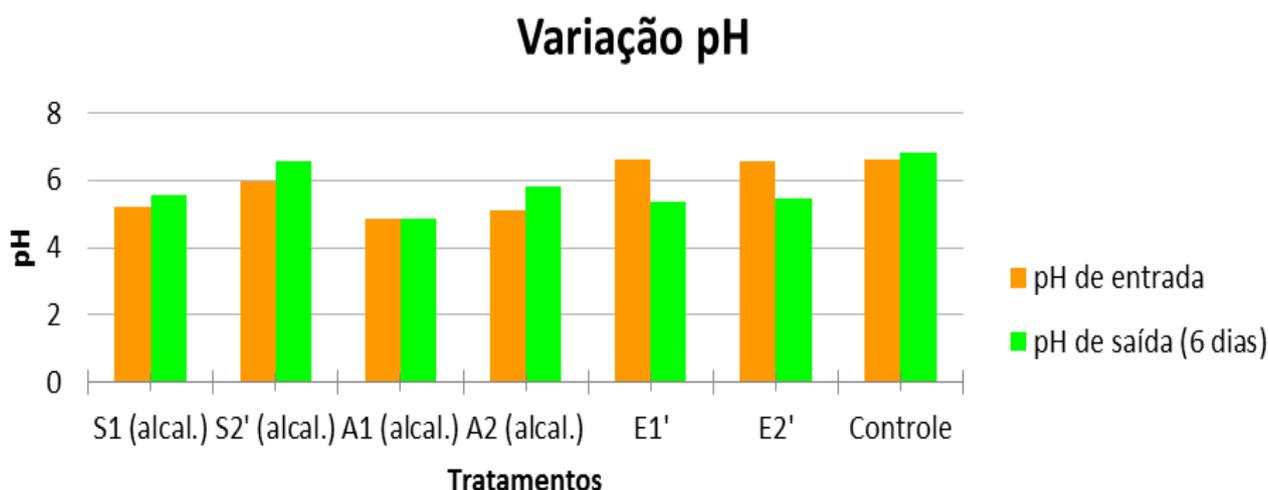


Figura 20: Análise comparativa do pH inicial e de saída.

A análise do pH mostra que alguns tratamentos mantiveram seu pH relativamente estável, com um pH final de 6,84 para o tratamento controle, 5,57 e 6,55 para os tratamentos S1 (solução estoque com 1/2 carga+ 1/2 carga) e S2 (solução estoque com 1/3 carga+1/3 carga+ 1/3 carga), respectivamente, e 4,87 e 5,82 para os tratamentos com ácido acético, A1 (1/2 carga+ 1/2 carga) e A2 (1/3 carga+1/3 carga+ 1/3 carga). Enquanto que a solução contendo etanol teve seu meio acidificado, com um pH final de 5,35 (E1) e 5,46 (E2). Em geral, o pH final dos reatores variaram entre 4,87 a 6,84. A solução de estoque e o ácido acético tiveram o seu pH corrigido com a quantidade máxima de dois tipos de alcalinizantes (NaHCO_3 e

KHCO_3) como mostra na Tabela 10, e ainda assim o pH inicial ficou abaixo de 6, o que não favorece a fase metanogênica. Porém após os 6 dias, notou-se que houve um efeito tampão que mostrou-se eficiente para manter o pH próximo da neutralidade.

Tabela 10 – Valores de pH antes e após a correção e as respectivas quantidades de alcalinizantes adicionadas.

Tratamentos	pH inicial	Adição de NaHCO_3 (g)	Adição de KHCO_3 (g)	pH de entrada
S1	3.97	8.5	3.87	5.22
S2	4.15	8.5	3.87	5.87
S2'	4.24	8.5	3.87	5.98
A1	3.79	8.5	3.87	4.84
A1'	3.84	8.5	3.87	4.79
A2	4.1	8.5	3.87	5.12
A2'	4.07	8.5	3.87	5.06

Comparando-se os tratamentos de mesmo substrato porém com diferentes tempos de alimentação, ambos mantiveram o pH na mesma faixa. Todos os tratamentos tiveram um pH final maior quando o reator foi alimentado 3 vezes, sendo que a diferença do pH entre os tratamentos com 2 e 3 alimentações foi de aproximadamente 1,0. O tratamento com solução estoque de ácidos (S1) iniciou com o pH de 5,22 e terminou com 5,57, enquanto o S2 teve um pH inicial de 5,98 e 6,55 de saída. Os tratamentos com ácido acético entraram com um pH mais baixo que a solução estoque, com 4,84 (A1) e 5,12 (A2), e o pH de saída foi de 4,87 (A1) e 5,82 (A2). O etanol, por sua vez, iniciou com 6,61 (E1') e 6,55 (E2') e terminou com 5,35 (E1') e 5,46 (E2'), ou seja, houve um azedamento.

É possível também que o inóculo tenha desfavorecido a manutenção no sistema, uma vez que, apesar do pH encontrar-se na faixa adequada para o crescimento dos microrganismos, a alcalinidade estava bem abaixo dos padrões desejadas. Caso haja ácidos em excesso no meio, não haverá um tamponamento suficiente para manter o pH na faixa desejada.

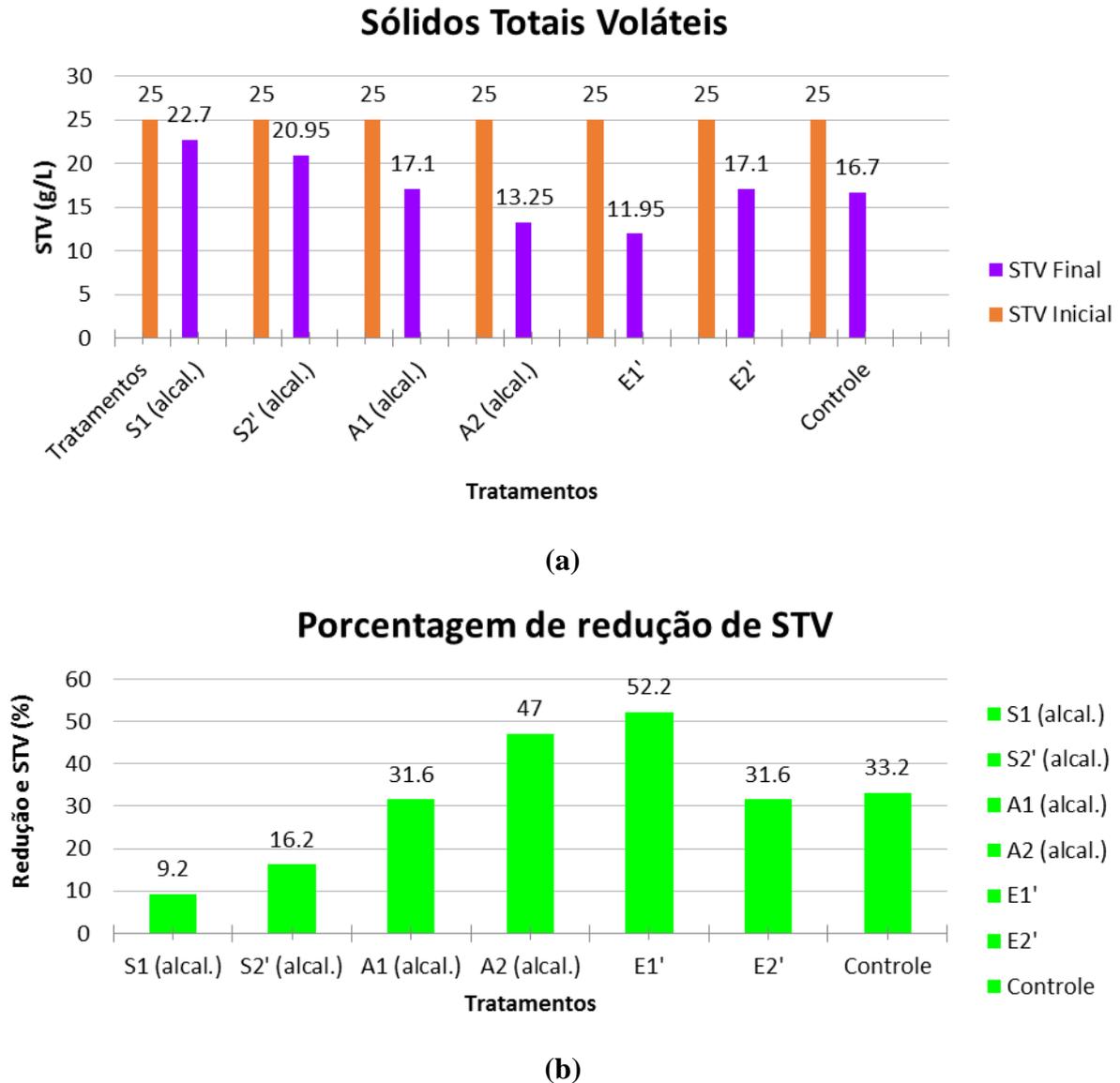
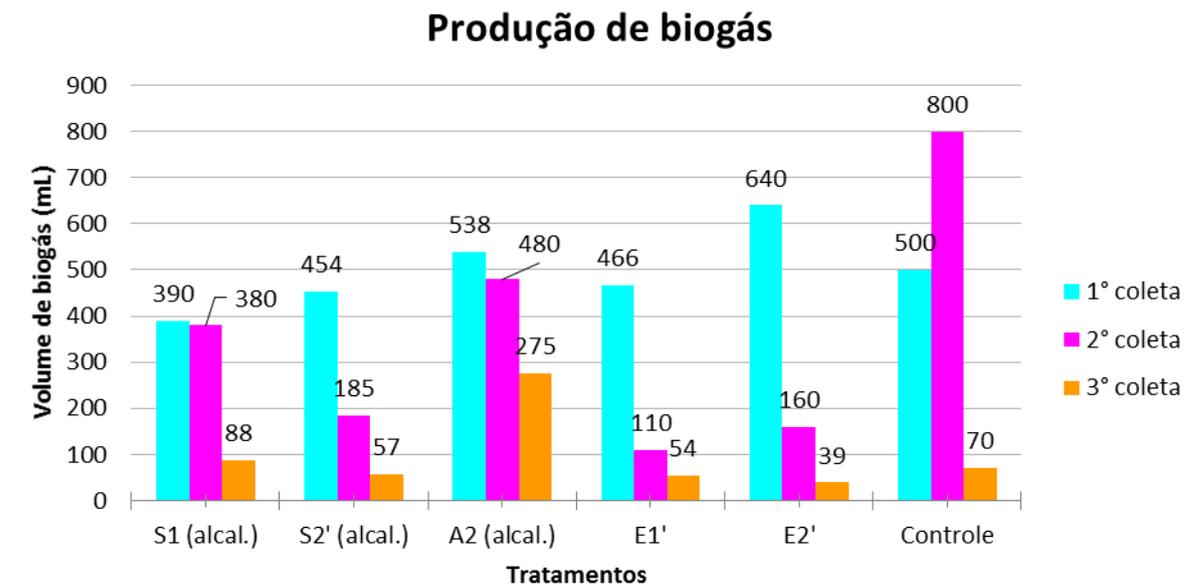


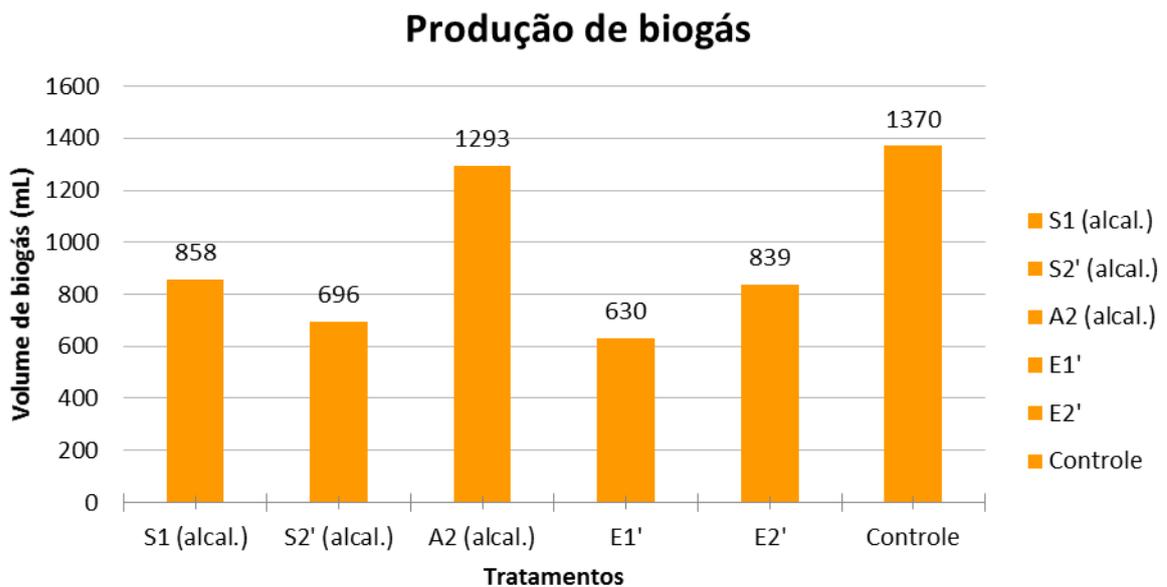
Figura 21: Análise do parâmetro sólidos totais voláteis – (a) comparação dos STV iniciais e finais, (b) eficiência de remoção de STV.

Todos os reatores tiveram uma redução de STV, conforme apresentado na Figura 19. Sendo que a solução estoque teve uma quantidade final de STV de 22,7 g/L (S1) e 20,95 g/L (S2), com uma redução de 2,3 (S1) e 4,05 (S2) % em relação a inicial. O ácido acético e o etanol obtiveram uma diminuição de STV significativa, com STV final de 17,1 (A1) e 13,25 (A2) g/L; 11,95 (E1) e 17,1 (E2) g/L, e redução de 7,9 (A1) e 11,75 (A2) g/L; 13,05 (E1) e 7,9 (E2) %. Ademais, os tratamentos com duas alimentações (S1 e A1) obtiveram uma redução menor de STV em relação às com três bateladas (S2 e A2), excetuando-se o etanol que teve um resultado inverso.

Analisando-se a Figura 21(b) é possível inferir que os tratamentos com etanol e o ácido acético, ao final do teste, tiveram uma porcentagem de redução de metade da seus STV. O tratamento controle reduziu em torno de 30% e a solução estoque aproximadamente 10%. Assim, nota-se que havia uma quantidade de substrato remanescente significativo evidenciado pelo tratamento controle e que o tratamento com etanol e ácido acético forneceram condições para os micro-organismos degradarem o substrato adicionado.



(a)



(b)

Figura 22: Produção de biogás – (a) volume de biogás produzido em cada coleta, (b) volume de biogás acumulada em cada reator.

O uso da garrafa PET para a quantificação da produção de biogás feita a partir do método volumétrico mostrou-se sujeito a falhas. Em alguns tratamentos, a conexão entre o registro com a mangueira haviam bolhas de ar, que indicava o escape do biogás. Portanto, analisou-se apenas os tratamentos que não tiveram vazamento.

Em relação a produção de biogás, observa-se que, de maneira geral, o pico em todos os reatores foi na primeira coleta seguido de uma queda a partir da segunda coleta, exceto o controle que teve seu pico na segunda coleta. Logo, o lodo sem substrato demorou mais para ativar, e na primeira coleta o lodo encontrava-se ainda fase lag.

A solução estoque e o ácido acético produziram uma quantidade significativa na primeira coleta, 390 (S1) e 454 (S2) mL; 371 (A1) e 538 (A2) mL, respectivamente, e manteve uma produção menor durante as outras coletas. O ácido acético obteve um desempenho final melhor que a solução estoque, com um volume final acumulado de 1293 mL (A2), ao passo que o reator S1 produziu 858 mL. O etanol, apesar de ter gerado uma produção alta de metano no início, teve uma queda brusca na segunda coleta em diante, acumulando um volume total de 839 mL (E2). O controle foi o que apresentou o melhor resultado, com a maior produção de metano na segunda coleta, e com um total de volume produzido em todos os dias de 1370 mL.

Assim como ocorrido no teste com uso do ácido acético e etanol, a primeira coleta do biogás evidenciou que a comunidade microbiana foi ativada, algumas chegando até a produzir o pico máximo da fase exponencial. A segunda coleta iniciou uma queda da produção de biogás, e a terceira a produção é mínima. Nota-se que o controle teve um comportamento diferente, em que a fase de produção máxima de biogás foi na segunda coleta.

O ácido acético é considerado o maior precursor do metano produzido na digestão anaeróbia, sendo 70% do metano formado por ele, e juntamente com o ácido propiônico, constituem cerca de 85% da produção total de metano. Dentre as arqueas metanogênicas, existem somente dois gêneros de espécies capazes de utilizar o acetato como substrato (*Methanosaeta* e *Methanosarcina*) (DUNCAN; HORAN, 2003). O primeiro grupo é o mais sensível a mudanças de pH do meio, pois isso influencia diretamente a forma em que o ácido acético se encontra disponível. Se o ácido acético encontra-se na forma não dissociada, ocorre uma indução para o substrato atravessar a membrana celular e a arquea consegue utilizá-lo para o seu metabolismo. Essa condição verifica-se somente em um intervalo de pH

relativamente pequeno, entre pH 6,0 e 8,0. Em caso de pH superior, o ácido acético estará presente principalmente em forma de acetato (CH_3COO^-) e a concentração da forma não dissociada no meio não será suficiente a criar um gradiente para que ele atravesse a membrana celular. Ao contrário, caso o pH do meio seja relativamente baixo (entre pH 5,0 e 6,0), haverá um excesso de ácido acético em forma não dissociada que atravessa as membranas celulares inibindo o metabolismo das arqueas por excesso de substrato (CECCHI et al., 2005).

O etanol mostrou-se no início um substrato promissor, capaz de produzir uma grande quantidade de biogás. Entretanto na segunda e terceira coleta obteve o pior desempenho de todos os outros reatores, acompanhada de uma queda no pH. Essa decréscimo indica que houve inibição dos microrganismos no meio. O etanol ao ser consumido pelas bactérias acetogênicas, produz acetato, íons H^+ e hidrogênio. Portanto, o etanol favoreceu inicialmente o crescimento das bactérias acetogênicas que, conseqüentemente, forneceu substrato para as arqueas metanogênicas acetoclásticas gerarem metano. Porém, em um segundo momento, pelo fato das reações metanogênicas operarem em condições de pH específicas, o pH baixo favoreceu o acúmulo de ácidos e inibição dos micro-organismos.

Os tratamentos com ácido acético e a solução estoque forneciam uma fonte de alimentação direta de ácido acético de forma não dissociada e com um pH ótimo para o crescimento das metanogênicas. Isso porque foi feita uma correção de pH nesses dois tratamentos, aumentando o efeito tampão no meio, ao contrário do etanol que não teve adição de alcalinizante. Possivelmente essa seria uma etapa que faria diferença no desempenho do tratamento do etanol.

cada tratamento e a Figura 24 mostra a produção do metano em cada tratamento em dois momentos, após 48 e 144 horas.

Tabela 11 - Distribuição percentual dos gases no biogás

Tratamento	48 h				Total	144 h - 48 h = 96 h				Total
	CH ₄	CO ₂	H ₂ S	N ₂		CH ₄	CO ₂	H ₂ S	N ₂	
S1 (alcal.)	-	102	-	3	105	-	35	-	60	95
S2' (alcal.)	4	96	-	1	101	9	41	-	47	97
A1 (alcal.)	31	-	-	66	97	-	104	-	3	107
A2 (alcal.)	1	105	-	1	107	82	-	-	34	116
E1'	82	20	1	2	105	60	30	-	10	100
E2'	80	14	-	4	98	48	35	-	15	98
Controle	64	20	-	9	93	59	41	1	1	102

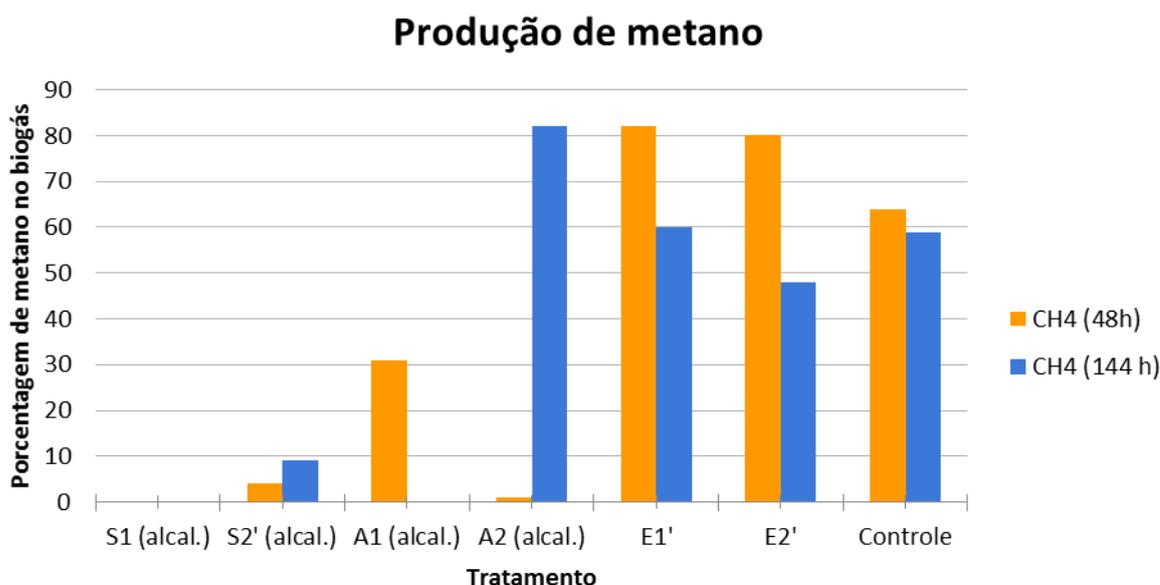


Figura 24: Produção de metano através da leitura da cromatografia gasosa

Vale ressaltar que a alta produção do N₂ foi devido aos erros na medição, onde houve contaminação do meio na hora de coletar o gás com a seringa. Os tratamentos com solução estoque nas duas coletas não obteve produção de metano, sendo o biogás composto por sua maioria de gás carbônico. O tratamento A1 na primeira medição apontou uma predominância de nitrogênio, e após 96 horas, o gás carbônico foi, praticamente, o único gás identificado. O A2 na primeira medição detectou apenas gás carbônico, e na segunda, houve produção de metano, com 82% e 32% de nitrogênio. Os dois tratamentos com etanol detectaram uma

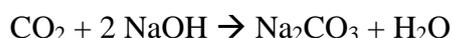
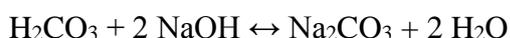
predominância de metano no meio, com 82 (E1) e 80 (E2) % na primeira medição, e na segunda, 60 (E1) e 48 (E2) %. O tratamento controle obteve um bom desempenho também na produção de metano, com 64% após 48 horas e 59% após 96 horas.

A Tabela 12 compara a produção do biogás pelo Mariotte e a sua composição de gases realizado no cromatógrafo.

Tabela 12 - Análise comparativa entre a produção de biogás pelo Mariotte e sua composição de gases.

Biogás	Mariotte	Cromatografia		Mariotte	Cromatografia			
		Tratamentos	Volume total (mL) (2º dia - 48h)		Gases	Porcentagem	Volume total (mL) (6º dia - 144h)	Gases
S1 (alcal.)	390		N ₂	3	88		N ₂	60
			CH ₄	0			CH ₄	0
			CO ₂	102			CO ₂	35
			H ₂ S	0			H ₂ S	0
S2' (alcal.)	454		N ₂	1	57		N ₂	47
			CH ₄	4			CH ₄	9
			CO ₂	96			CO ₂	41
			H ₂ S	0			H ₂ S	0
A1 (alcal.)	371		N ₂	66	14		N ₂	3
			CH ₄	31			CH ₄	0
			CO ₂	0			CO ₂	104
			H ₂ S	0			H ₂ S	0
A2 (alcal.)	538		N ₂	1	275		N ₂	34
			CH ₄	1			CH ₄	82
			CO ₂	105			CO ₂	0
			H ₂ S	0			H ₂ S	0
E1' (alcal.)	466		N ₂	2	54		N ₂	10
			CH ₄	82			CH ₄	60
			CO ₂	20			CO ₂	30
			H ₂ S	1			H ₂ S	0
E2' (alcal.)	640		N ₂	4	39		N ₂	15
			CH ₄	80			CH ₄	48
			CO ₂	14			CO ₂	35
			H ₂ S	0			H ₂ S	0
BR' (alcal.)	500		N ₂	9	70		N ₂	1
			CH ₄	64			CH ₄	59
			CO ₂	20			CO ₂	41
			H ₂ S	0			H ₂ S	1

Comparando-se o volume de biogás produzido com as porcentagens dos gases no biogás conclui-se que o metano nem sempre é o gás predominante, e que, independente do volume quantificado pelo Mariotte, não é indicativo de produção de metano. Teoricamente, o método de medição direta do volume de metano parte-se do pressuposto de que o CO₂ e CH₄ são os principais constituintes do biogás e o NaOH absorve o CO₂ devido as seguintes reações (AQUINO *et al.*, 2007):



Na prática, em alguns tratamentos, o NaOH não reagiu com o CO₂ e ocorreu o deslocamento da solução de hidróxido para o béquer. Como exemplo, o tratamento S1 foi detectado no biogás apenas CO₂ na primeira coleta e mesmo assim o volume medido pelo Mariotte foi de 390 mL.

5.6 Microscopia óptica: fluorescência e microscopia de contraste de fase

As figuras 25 e 26 são imagens capturadas das microscopias ópticas realizadas para analisar a microbiologia do lodo coletado do reator UASB da ETE, e as Figuras 27 e 28 e após o término do teste de ativação com os substratos ácido acético e etanol. No lodo coletado observou-se diferentes células com formas em bacilos. As possíveis metanogênicas identificadas eram pouco frequentes em comparação com outras formas de agrupamento, como vibrião, espirilo e levedura. A Figura 26 evidencia a presença de micro-organismos metanogênicos, pois através da radiação do comprimento de onda de 420 nm, as co-enzima F₄₂₀ das metanogênicas são ativadas, produzindo uma fluorescência de cor azul-esverdeada (VOGELS; KELTJENS; VAN DER DRIFT, 1988). Após a realização do teste de ativação, notou-se uma frequência maior da morfologia de bacilos em comparação com o lodo coletado. A microscopia de fluorescência indicou presença de massas microbianas aglomeradas.

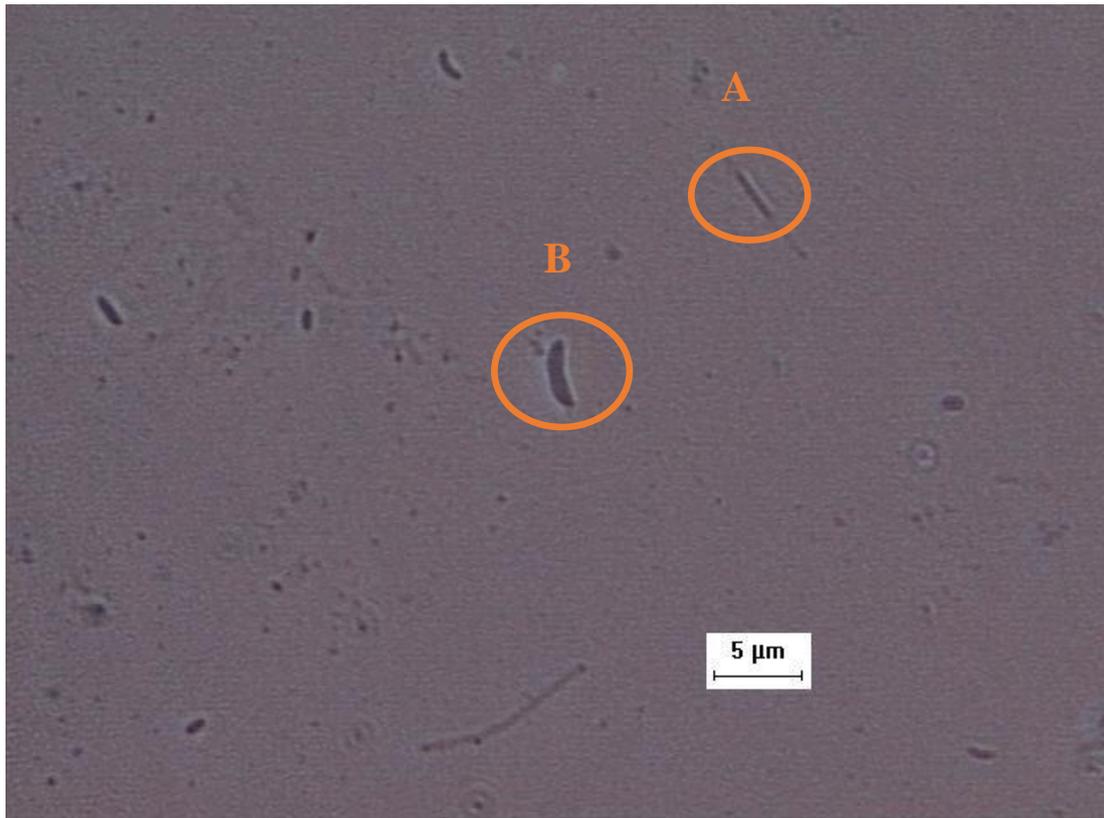


Figura 25: Microscopia de contraste de fase do lodo do reator UASB da ETE. A) Bacilo. B) Vibrião. C) Bacilo delgado.

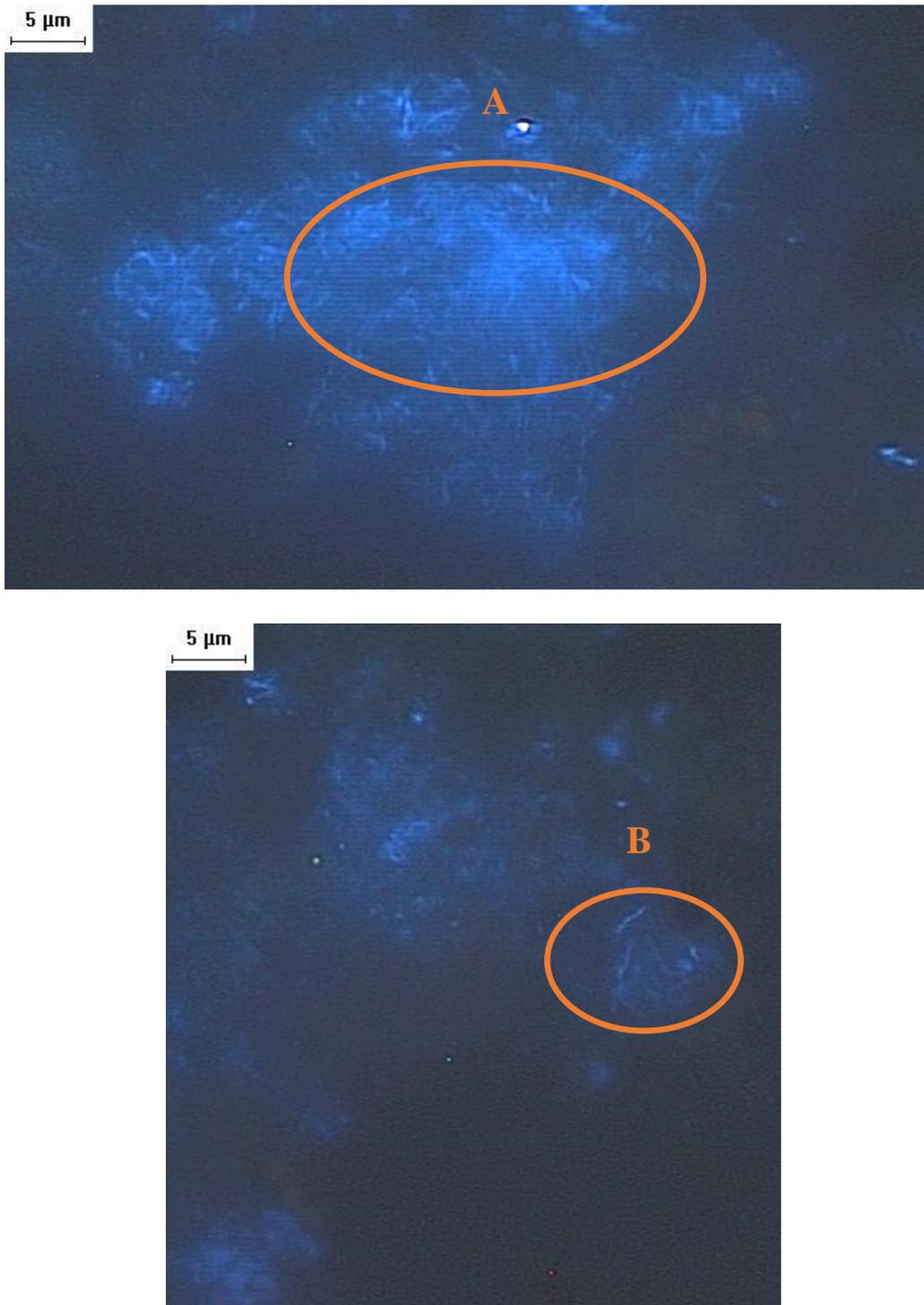


Figura 26: Microscopia de fluorescência do lodo de esgoto da ETE de São Carlos/SP. A) Massa microbiana fluorescente. B) Vibriões fluorescentes.



Figura 27: Microscopia de contraste de fase do lodo após o termino do teste. A) Bacilos.

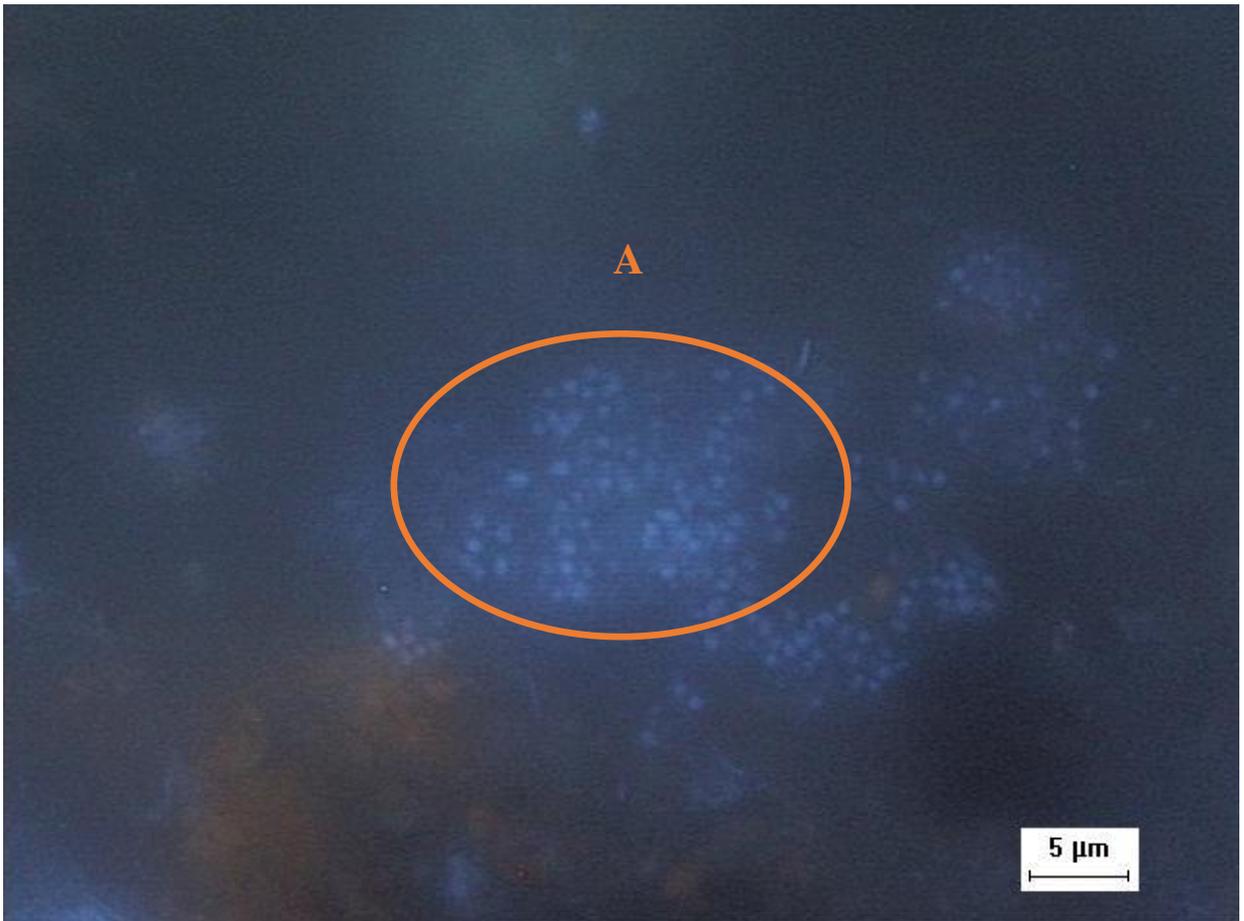


Figura 28: Microscopia de fluorescência após o término do teste. A) Massa microbiana fluorescente.

6 CONCLUSÕES

A caracterização físico-química do lodo indicou que possuía um pH, teor de humidade e STV mostraram-se adequados para o crescimento microbiano. No entanto, a alcalinidade estava abaixo do valor recomendado, por isso, a adição do alcalinizante seria uma prevenção para evitar quedas bruscas.

O teste AME com a relação A/M 0,6 foi subestimada e os microrganismos do lodo possuíam um potencial maior de degradação do substrato, portanto, o teste prévia da ativação não explorou ao máximo a capacidade de produção de biogás dos microrganismos. O quarto teste, o da ativação, foi utilizado a relação A/M 1,2.

No teste com substrato de ácido acético e etanol, o tratamento E2 obteve o melhor desempenho, sendo o que produziu a maior quantidade de biogás. Os tratamentos com etanol, em geral, mostraram-se mais eficientes que o com ácido acético. Já no teste com adição da solução estoque, ácido acético e etanol, o tratamento com etanol não obteve um bom desempenho, com queda no pH final e baixa produção de biogás acumulado. Esse teste demonstrou que o tratamento controle houve um período de quatro dias para sua ativação e sua produção máxima de biogás, assim, o controle evidencia que havia substrato remanescente no lodo. Em ambos os testes, o controle produziu uma quantidade menor de biogás na primeira coleta e demorou mais para sair da fase lag. Portanto, os tratamentos com substrato obtiveram uma ativação mais rapidamente do que sem substrato.

A cromatografia gasosa indicou que, apesar dos erros de medição, alguns tratamentos não produziram metano ou se produziu não foi significativo, como por exemplo o S1 e S2, e que, portanto, o volume deslocado pelo Mariotte não representou necessariamente o volume do metano. O tratamento A1 indicou presença de metano na primeira medição e nenhum metano foi detectado na segunda, ao contrário do A2 que, não houve produção de metano após 48 horas, mas na segunda medição havia 82%. O E1 e E2 apresentaram uma parcela majoritária de produção de metano na primeira medição e segunda medição. Por fim, o controle apresentou uma parcela expressiva de metano na sua composição de gases.

A microscopia óptica de contraste de fase e fluorescência no lodo coletado identificou algumas células com formas de bacilos. A recorrência dessas morfologias foi acentuada no

final do teste de ativação com os substratos ácido acético e etanol, a microscopia de fluorescência indicou massas microbianas fluorescentes.

7 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Após a realização dos testes de ativação, observou-se algumas falhas a serem corrigidas para próximos experimentos:

- É fundamental a correção do pH de entrada e o uso do alcalinizante nos tratamentos para que haja uma capacidade de tamponamento que evite a queda brusca do pH, ou redução da carga orgânica a serem adicionadas em parcelas
- Em um experimento teste o uso da garrafa PET é viável, porém, caso queira uma precisão nos resultados é importante o uso do frasco de Duran. A garrafa é maleável e pode implicar em erros nas medições, principalmente no uso do frasco de Mariotte;
- Medir a pressão da entrada do cromatógrafo, pois foi considerado pressão ideal de 1 atm. Além de ser preciso na hora de colocar a agulha na mangueira para que não haja contaminação;
- É importante a incubação do lodo para que seja consumido todo o material remanescente (sem substrato) e após não houver nenhuma produção de biogás, adiciona-se o substrato. Ademais, após essa incubação fazer a análise de STV;
- A carga orgânica do substrato pode ter sido agressiva para o meio, deve haver uma adaptação, sendo uma das alternativas a diluição dessa carga orgânica;
- Faltou a adição de meio nutricional complexo

REFERÊNCIAS

_____. **Panorama dos resíduos sólidos no Brasil**. 2012. Disponível em: <<http://www.abrelpe.org.br/Panorama/panorama2012.pdf>> Acesso em: 17 de Junho de 2016.

ABREU, F.C. et al. **Biogás de aterro para geração de eletricidade e iluminação**. São Paulo: Universidade de São Paulo; IEE/CENBIO, – Instituto de Eletrotécnica e Energia/ Centro Nacional de referência em Biomassa, 2006.

ABREU, T.A. **Hidrólise química visando a solubilização da matéria orgânica e a higienização de lodos aeróbio e anaeróbio de estações de tratamento de esgotos sanitários**. 2003. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Espírito Santo, Vitória, 2003.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. American Water Works Association. Water Environmental Federation. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. 22nded. Washington: APHA, 2012.

ANDREOLI, C.V.; PINTO, M.A.T. **Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final**. Rio de Janeiro: ABES, 2001. (Projeto PROSAB).

ANDREOLI, C.V. et al. Uso de lodo de esgoto na produção de substrato vegetal. In: ANDREOLI, C.V. (Coord.). **Alternativas de uso de resíduos do saneamento**. Rio de Janeiro: ABES, 2006. p.236-281. (Projeto PROSAB).

AQUINO, S.F. et al. Metodologia para determinação da atividade metanogênicas específica (AME) em Lodos Anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.12, n.2, p.192-201, abr./jun. 2007.

BARCELOS, B.R. **Avaliação de diferentes inóculos na digestão anaeróbia da fração orgânica de resíduos sólidos domésticos**. Dissertação (Mestrado). Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF. 2009.

BORGES, E. S. M. **Tratamento térmico de lodo anaeróbio a partir da queima do biogás produzido em reator UASB objetivando a higienização e a melhoria da biodisponibilidade e biodegradabilidade da fração orgânica**. Tese de doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, UFMG, 2004.

CASSERLY, C.; ERIJMAN, L. Molecular monitoring of microbial diversity in an UASB reactor. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.52, n.1, p.7-12, July 2003.

CECCHI, F. et al. **Digestione anaerobica della frazione organica dei rifiuti solidi: aspetti fondamentali, progettuali, gestionali, di impatto ambientale ed integrazione com la depurazione delle acque reflue**. Roma: APAT, 2005. (Manuali e linee guida 13/2005).

CHERNICHARO, C.A.L. **Reatores anaeróbios**. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 1997. p.245.

CONTRERA, R.C. **Tratamento de lixiviado de aterros sanitários em sistema de reatores anaeróbio e aeróbio operados em batelada sequencial**. 2008. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

DAVIS, R.D.; HALL, J.E. Production, treatment and disposal of wastewater sludge in Europe from a UK perspective. **European Water Pollution Control**, v.7, n.2, p.9-17, 1997.

DUNCAN, M.; HORAN, N.J. **Handbook of water and wastewater microbiology**. New York: Academic Press, 2003.

EFFEBI, K.R. et al. Acidogenic and methanogenic activities in anaerobic ponds. **International Journal of Scientific and Engineering Research**, v.2, n.12, p.1-4, 2011.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Biosolids generation, use, and disposal in the United States**. Washington: USEPA, 1999. (EPA 530-R-99-009).

FORSTER-CARNEIRO, T.; PÉREZ, M.; ROMERO, L.I. Composting potential of different inoculum sources in the modified SEBAC system treatment of municipal solid wastes. **Bioresource Technology**, v.98, n.17, p.3354-3366, 2007.

GOMES, L.P. **Estudo da caracterização física e da biodegradabilidade dos resíduos sólidos urbanos em aterros sanitários**. 1989. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.

GRADY, C.P.L.J.; LIM, H.C. **Biological waste treatment**. New York: Marcel Dekker, 1980.

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

HENZE, M.; HARREMOES, P. Anaerobic treatment of waste water in fixed film reactors – a literature review. **Water Science and Technology**, v.15, p.1-101, 1983.

KHALID, A. et al. The Anaerobic digestion of solid organic waste. **Waste Management**, v.31, n.8, p.1737-1744, 2011.

KHIARI, B. et al. Analytical study of the pyrolysis process in a wastewater treatment pilot station. **Desalination**, v.167, p.39-47, 2004.

LEITE, V.D. et al. Bioestabilização de resíduos sólidos orgânicos. In: CASSINI, S.T. (Coord.). **Digestão de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento de biogás**. Rio de Janeiro: PROSAB, 2003. p.95-119.

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

MADIGAN, M.T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14.ed. Porto Alegre: ARTMED, 2016. Cap.3-5, p.75-151.

MARTINS, T.H. **Apostila sobre o uso de teste manométrico para determinação de atividade específica em lodos biológicos.** [S.l.:s.n.], 2015.

MATA-ALVAREZ, J et al. **Codigestion of solid wastes: A review of its uses and perspectives including modeling.** *Critical Reviews in Biotechnology*, v. 31(2), p 99-111, 2011.

METCALF & EDDY Inc. **Wastewater Engineering. Treatment, Disposal and Reuse**, Mc Graw Hill Company, 3rd ed., 1991. 1.334p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 17.** 2014.

PARKIN, G.F.; OWEN, W.F. Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges. **Journal of Environmental Engineerng**, n. 112, p.867-920, 1986.

PEDROZA, M.M.; VIEIRA, G.E.G.; SOUZA, J.F.; PICKLER, A.C.; LEAL, E.R.M.; MILHOMEN, C.C. Produção e tratamento de lodo de esgoto – uma revisão. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v.11, n.16, p-86-XX. 2010.

PEGORINI, E.S. et al. **Produção e disposição final de lodo de esgoto na reciclagem agrícola da região metropolitana de Curitiba – PR.** In: SIMPÓSIO SOBRE BÍOSSÓLIDOS NO ÂMBITO DO MERCOSUL, 3., 2003, São Paulo. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES; AIDIS, 2003. 1 CD-ROM.

PENNA, J.A.; VAZOLLER, R.; CAMPOS, J.R. **Estudo da metodologia de atividade metanogênica específica.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 18., 1995, Salvador. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 1995.

PINTO, R.O. **Avaliação da digestão anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos, lodos de tanques sépticos, dejetos suínos e lixiviado.** 2006. 174p. Tese (Doutorado) –Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2006.

PROGRAMA DE PESQUISA EM SANEAMENTO BÁSICO (PROSAB); COMPANHIA DE SANEAMENTO DO PARANÁ (SANEPAR). **Uso e Manejo do lodo de esgoto na agricultura.** Curitiba, 1999.

RAMOS, R. A. **Avaliação da influência da operação de descarte de lodo no desempenho de reatores UASB em estações de tratamento de esgotos no Distrito Federal.** Dissertação de mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH.DM - 117/2008, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 133p.

RITTMANN, B.E.; McCARTY, P.P. **Environmental biotechnology: principles e applications.** New York: McGraw-Hill International, 2001.

ROCHA, M.A.G. FLORENCIO, L. KATO, M.T. SILVA, A.M.R.B. **Avaliação e comparação entre a atividade metanogênicas específica de esgotos doméstico e**

industrial. In: ANAIS 21º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHERIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, João Pessoa, 2001.

SCHIMIDELL, W. et al. Início de operação de biodigestores para resíduos sólidos. **Microbiologia**, v.17, p.162-172, 1986.

SILVA, G.A. et al. Caracterização e aclimação do lodo anaeróbio visando o seu uso como inóculo de um reator de RSU para produção de biogás. **Revista de Tratamento de Água e Efluentes**, ano 2, n.10, p. 8, 2013. Disponível em:<<http://www.revistatae.com.br/artigos.asp?id=121&fase=c>>. Acesso em: 21 de Setembro de 2016.

SOARES, M.R. **Coefficiente de distribuição (kd) de metais pesados em solos do estado de São Paulo.** 2004. 202p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

SOUTO, G.D.B. **Efeito da variação gradual da taxa de recirculação do lixiviado em reatores anaeróbios híbridos na digestão da fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos.** 2005. 115f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

SPEECE, R.E. **Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters.** Nashville: Archae, 1996.

STRONACH, S.M.; RUDD, T.; LESTER, J.N. **Start-up of anaerobic bioreactors on high strength industrial wastes.** **Biomass**, v.13, p.172-197, 1987.

TSUTYA, M.T. **Alternativas de disposição final de biossólidos.** In: BIOSSÓLIDOS na Agricultura. São Paulo: SABESP, 2002. p.133-178.

VOGELS, G.D.; KELTJENS, J.T.; VAN DER DRIFT, C. Biochemistry of methane production. In: ZEHNDER, A.J.B. (Ed.). **Biology of anaerobic microorganisms.** New York: John Wiley, 1988. p.707-770.

VON SPERLLING, M. **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final.** Belo Horizonte: Departamento Sanitário e Ambiental/UFMG; Companhia de Saneamento do Paraná, 2001.

Apêndice A – Resultados do Teste AME

Tabela 13: Resultados Teste AME.

		Concentração gSTV/L	Alimento gDQO/L	Inóculo gSTV/L	Relação A/M	Resultado gDQO/gSSV*d	Méd ia
Primei ra Análise (Teste)	Lodo ETE	24.52	3	5	0.6	0.1455	0.12 6
						0.1255	
						0.1257	
Análise 1	Lodo ETE	25.00	3	3	1	0.2078	0.20 9
						0.2091	
						0.2095	
	Lodo ETE	25.00	3	6	0.5	0.1402	0.14 1
						0.1427	
						0.1553	
Análise 2	Lodo ETE	25.00	3	2.5	1.2	0.21026	0.21 0
						0.21401	
						0.20705	
	Lodo ETE	25.00	3	3.75	0.8	0.16625	0.16 7
						0.16732	
						0.13970	

Apêndice B – Resultados dos Testes Preliminares

Tabela 14: Volume de biogás produzido no Teste Mariotte invertido com realização da purga.

Teste Mariotte invertido com realização da purga			
Substrato	14-Jun		15-Jun
	7 hrs	19 hrs	7 hrs
1 ml ác acetico + 1 ml etanol	-	125 mL	-
1 ml ác acetico + 1 ml etanol	440 mL	430 mL	425 mL
2 ml ac acetico	110 mL	165 mL	-
2 ml ac acetico	8 mL	36 mL	-
2 ml etanol	-	-	145 mL
2 ml etanol	260 mL	140 mL	-

Tabela 15: Volume de biogás produzido no Teste Mariotte invertido sem realização da purga

Teste Mariotte invertido sem realização da purga											Produção total (mL)
Substrato	16-Junho		17-Junho		18-Junho		19-Junho		20-Junho		
	7 hrs	19 hrs									
1 ml ác acetico + 1 ml etanol	117 mL	125 mL	-	100 mL	-	105 mL	-	-	-	-	447
1 ml ác acetico + 1 ml etanol	-	430 mL	425 mL	-	150 mL	10 mL	-	-	-	-	1015
2 ml ac acetico	70 mL	165 mL	-	70 mL	-	-	-	-	-	-	305
2 ml ac acetico	100 mL	36 mL	-	105 mL	-	-	-	-	-	-	241
2 ml etanol	300 mL	-	-	-	-	20 mL	-	-	-	-	320
2 ml etanol	265 mL	140 mL	145 mL	140 mL	-	220 mL	-	-	-	-	910

Apêndice C – Resultados do teste com adição dos substratos etanol e ácido acético

Tabela 16: Resultados do pH inicial e final, juntamente com os valores da correção, do teste com adição dos substratos etanol e ácido acético.

pH							
Tratamento	pH inicial	Correção do pH		pH inicial'	pH 07/07 (10:15h)	pH 12/07 (14:15h)	pH final 15/07 (9:45h)
		NaHCO ₃ (g)	KHCO ₃ (g)				
BR	6.65	-	-	6.65	8.59	7.87	8.43
Ac1	3.78	5.14	2.47	4.73	4.88	4.83	4.83
Ac2	4.04	5.14	2.47	5.8	6.78	4.81	4.82
Ac3	4.11	5.14	2.47	6.05	7.27	5.26	4.7
E1	6.61	-	-	6.61	5.14	4.88	4.9
E2	6.65	-	-	6.65	5.31	4.92	4.92
E3	6.6	-	-	6.6	5.41	4.92	4.88

Tabela 17: Resultados do STV (g/L) inicial e final do teste com adição dos substratos etanol e ácido acético.

STV		
Tratamento	STV inicial (g/L)	STV final (g/L)
BR	25.0	13.6
Ac1	25.0	24.3
Ac2	25.0	23.3
Ac3	25.0	24.2
E1	25.0	18.2
E2	25.0	16.6
E3	25.0	21.8

Tabela 18: Resultados da produção de biogás do teste com adição dos substratos etanol e ácido acético

Produção de biogás (mL)			
Tratamento	07/07 (10:15h)	12/07 (14:15h)	15/07 (9:45h)
BR	20	65	30
Ac1	435	60	35
Ac2	450	110	46
Ac3	660	140	28
E1	970	110	8
E2	1465	250	100
E3	970	215	11

Tabela 19: Estimativa da DQO de entrada do teste com adição dos substratos etanol e ácido acético

Estimativa DQO entrada				
Tratamento	Lodo (gDQO/L)	Quantidade de substrato (mL)	Quantidade de substrato (gDQO/L)	DQO inicial (gDQO/L)
BR	192.19	-	-	192.19
Ac1	192.19	10	15.32	207.51

Ac2	192.19	5 + 5	7.66	199.85
Ac3	192.19	3.33 + 3.33 + 3.33	5.10	197.29
E1	192.19	8	15.26	207.45
E2	192.19	4 + 4	7.63	199.82
E3	192.19	2.66 + 2.66 + 2.66	5.08	197.27

Tabela 20: Resultados da DQO em cada coleta do teste com adição dos substratos etanol e ácido acético.

DQO						
Tra tam ento	DQO inicial estimada (gDQO/L)	1ª coleta - (DQOsólida + DQO líquida) g/L	DQO 1ª adição estimada (gDQO/L)	2ª coleta - (DQOsólida + DQO líquida) g/L	DQO 2ª adição estimada (gDQO/L)	3ª coleta (final) - (DQOsólida + DQO líquida) g/L
BR	192.19	204.07	204.07	208.02	208.02	188.52
Ac1	207.51	179.28	179.28	163.51	163.51	256.11
Ac2	199.85	198.16	205.82	197.18	197.18	255.38
Ac3	197.29	178.88	183.98	179.84	184.94	260.41
E1	207.45	235.95	235.95	167.57	167.57	226.52
E2	199.82	174.69	182.32	173.82	173.82	195.57
E3	197.27	164.83	169.90	166.78	171.85	269.93

Apêndice D - Resultados do teste com adição dos substratos etanol, ácido acético e solução estoque de ácidos

Tabela 21: Resultados do pH inicial e final, juntamente com os valores da correção, do teste com adição dos substratos solução estoque, etanol e ácido acético.

Amostr as	pH inicial	Correção de pH	Adição de NaHCO ₃ (g)	Adição de KHCO ₃ (g)	pH de entrada	pH de saída (6 dias)
S1	3.97	Sim	8.5	3.87	5.22	5.57
S1'	3.98	Sim	8.5	3.87	5.28	
S2	4.15	Sim	8.5	3.87	5.87	
S2'	4.24	Sim	8.5	3.87	5.98	6.55
A1	3.79	Sim	8.5	3.87	4.84	4.87
A1'	3.84	Sim	8.5	3.87	4.79	
A2	4.1	Sim	8.5	3.87	5.12	5.82
A2'	4.07	Sim	8.5	3.87	5.06	
E1	6.61	Não	-	-	6.61	
E1'	6.61	Não	-	-	6.61	5.35
E2	6.41	Não	-	-	6.41	
E2'	6.55	Não	-	-	6.55	5.46
BR	6.63	Não	-	-	6.63	
BR'	6.62	Não	-	-	6.62	6.84

Tabela 22: Resultados da produção de biogás da 1ª e 2ª coleta teste com adição dos substratos solução estoque, etanol e ácido acético.

Volume de biogás	1ª coleta (21/07) - com cromatografia			2ª coleta (23/07) - sem cromatografia		
	Volume acumulado (mL)	Volume headspace (mL)	Volume total (mL) (21/07)	Volume acumulado (mL)	Volume headspace (mL)	Volume total (mL) (23/07)
S1	20	370	390	60	320	380
S1' (vazou)	0	250	250	0	260	260
S2 (vazou)	24	430	454	150	365	515
S2' (vazou)	0	360	360	35	150	185
A1	11	360	371	26	295	321
A1' (vazou)	2	280	282	0	205	205
A2	190	348	538	180	300	480
A2' (vazou)	170	351	521	150	320	470
E1 (vazou)	0	400	400	0	110	110
E1'	16	450	466	0	150	150
E2	5	250	255	0	160	160
E2'	170	470	640	8	225	233
BR	91	450	541	390	400	790
BR'	75	425	500	410	390	800

Tabela 23: Resultados da produção de biogás da 3ª coleta teste com adição dos substratos solução estoque, etanol e ácido acético

3ª coleta (25/07) - com cromatografia		
Volume acumulado (mL)	Volume headspace (mL)	Volume total (mL) (25/07)
7	81	88
5	43	48
0	270	270
0	57	57
0	14	14
0	9	9
0	275	275
0	280	280
0	54	54
0	73	73
0	39	39
0	78	78
42	405	447
0	70	70

Tabela 24: Resultados do STV de saída do teste com adição dos substratos solução estoque, etanol e ácido acético

Sólidos totais de saída (100 mL de amostra)						
Tratamentos	Média ST (g)	Média STF (g)	Média STV (g)	ST (g/L)	STF (g/L)	STV (g/L)
S1 (alcal.)	4.065	1.795	2.27	40.65	17.95	22.7
S2' (alcal.)	3.87	1.775	2.095	38.7	17.75	20.95
A1 (alcal.)	3.04	1.33	1.71	30.4	13.3	17.1
A2 (alcal.)	2.425	1.1	1.325	24.25	11	13.25
E1'	2.1	0.905	1.195	21	9.05	11.95
E2'	2.92	1.21	1.71	29.2	12.1	17.1
BR'	2.955	1.285	1.67	29.55	12.85	16.7

Apêndice E – Cromatografia Gasosa

A curva para gases do cromatógrafo GC-2014 é dado pelas seguintes equações das retas:

- $y = 18143,03x + 3075,73$ – Gás N_2
- $y = 14408,18x + 1847,35$ – Gás CH_4
- $y = 19252,23x + 2724,84$ – Gás CO_2

Sendo que x é o valor de micromols de cada gás em 500 microlitros e y é o valor da área obtido para os gases na amostra. O valor de micromols para cada gás foi avaliado em percentual em relação a quantidade total de mols ideais em 500 microlitros. O número de mols foi calculado pela equação dos gases ideais:

$$N = (P \cdot V) / (R \cdot T)$$

Em condições ideais, a pressão é 1 atm e R (constante universal) é 0.08205746 L.atm/K*mol. A temperatura utilizada foi de 35°C, equivalente a 308.15 K. Portanto, a quantidade total de mols é 0.00001977.

O modelo do cromatógrafo utilizado foi:

- Shimadzu GC-2014, TCD e coluna HP-PLOT/Q. Gás de arraste: hidrogênio.

$T_{\text{injetor}} = 160^\circ\text{C}$; Split = 5,0, fluxo da coluna = 4,0 mL/min

$T_{\text{detector}} = 170^\circ\text{C}$; polaridade = +; corrente = 180 mA.

$T_{\text{forno}} = 35^\circ\text{C}$ (2 min) até 170°C (1 min), a $60^\circ\text{C}/\text{min}$ (tempo de corrido = 5,25 min)

Gases detectados: CO_2 , N_2 , CH_4 , H_2S .

Anexo A – Metodologia para o teste AME

A metodologia foi realizada seguindo as recomendações de MARTINS (2015). Inicialmente foi determinado a massa de inóculo a ser adicionado no ensaio a partir da equação:

$$M1 * V1 = M2 * V2$$

Sendo que,

M1 = Massa de STV final (gSTV/L)

V1 = Volume do meio de reação (L) contendo inóculo, substrato, solução de nutrientes e água destilada para completar o volume.

M2 = Massa de lodo a ser adicionado para atingir o M1 considerando o V1 (g STV/L)

V2 = Volume a ser adicionado do lodo em cada frasco (L)

As etapas seguintes para partir uma corrida de teste manométrico foram:

- Colocar o frasco na balança;
- Tarar a balança;
- Adicionar a quantidade de lodo calculada dentro do equipamento, esperar 30 minutos para dar o “start”. Após o “start”, deixar 24 horas antes de injetar a fonte de carbono. Esse tempo necessário para que a atividade microbiana estabilizasse;
- Colocar 100 microlitros de cada solução de nutrientes (1 e 2);
- Adicionar 100 mL de água destilada no frasco (No Protocolo proposto por Martins foi utilizado 200 mL, optou-se pela adição de 100 mL pois a pressão dentro do frasco estava ficando muito alta e isso exigia o monitoramento constante do equipamento para não ultrapassar a pressão interna de segurança. Portanto, diminuindo o volume do ensaio, o problema foi resolvido);
- Colocar os septos laterais e tampar bem para evitar o vazamento de gás;
- Colocar o adaptador para cabeça medidora de pressão;

- Colocar cinco lentilhas de NaOH em cada cesto com auxílio de uma pinça;
- Colocar o cesto sobre o adaptador;
- Colocar a cabeça medidora no adaptador e rosquear sem fechar totalmente;
- Repetir os passos anteriores com todos os frascos que for utilizar;
- Levar os frascos em bandeja para a bancada com manifold de gases;
- Retirar a cabeça o cesto com NaOH e fluxionar 5 minutos de gás N₂ no meio líquido do frasco com o auxílio de uma pipeta de vidro conectada ao bico de gás por uma mangueira;
- Colocar o cesto e colocar a cabeça sem rosqueá-la até o fim;
- Fluxionar 2 minutos de N₂ com auxílio de outra mangueira com uma agulha inserida pelo septo lateral;
- Fechar o fluxo de gás e fechar rapidamente a cabeça;
- Deixar 30 minutos o lodo na estufa (período de adaptação do lodo à temperatura), colocar os fracos ordenadamente em estufa com agitação na temperatura desejada;
- Aguardar 60-120 minutos para retirada da sobrepressão devida à expansão dos gases pela temperatura. Esse tempo depende da temperatura ambiente, quanto menor maior o tempo necessário para que a temperatura do líquido e do gás nos frascos alcance a temperatura do ensaio;
- Retirar a sobrepressão em selo hídrico;
- Iniciar a determinação da pressão com o controle Oxitop;

Anexo B – Análise da fração sólida da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A análise da fração líquida da DQO foi realizada seguindo as recomendações de GOMES (1989), e sua determinação foi descrita abaixo:

- As amostras foram secas em estufas à 60°C por 48 horas (ou, poderia ser 110°C por 24 horas);
- Após secas, deixou-se esfriar e pesou-se 1 g de cada amostra, colocando em béquer de 500 mL;
- Na capela de exaustão, foram adicionados ao béquer 5 mL de água destilada e 20 mL de H₂SO₄ concentrado, agitando a solução em seguida;
- Após frias, as soluções foram colocadas em balão volumétrico de 250 mL, completando-se o volume com água destilada, a amostra foi agitada;
- As amostras foram filtradas em papel grosseiro;
- 2 mL de cada amostra foi adicionada a um tubo de DQO contendo 1,5 mL de solução de bicromato de potássio e 3,5 mL de ácido sulfúrico. Após agitado, verificou-se a coloração da solução: se amarela – alaranjada, colocou-se no digestor; se verde, significa que ultrapassou o limite de leitura do aparelho (0-800), necessitando diluir o filtrado;
- Os tubos Hach de DQO são levados para o digestor por 2 horas, à 150°C;
- Após resfriar, os tubos de DQO são levados ao espectrofotômetro para leitura da DQO.