



Universidade Federal do Rio de Janeiro

Escola Politécnica & Escola de Química

Programa de Engenharia Ambiental

Juliana Lemos Soares

**AVALIAÇÃO DE EFEITOS DA AÇÃO DE ENZIMAS SOBRE O ACÚMULO DE
ESCUMA NO TOPO DE REATORES UASB**

Rio de Janeiro

2018



Juliana Lemos Soares

**AVALIAÇÃO DE EFEITOS DA AÇÃO DE ENZIMAS SOBRE O ACÚMULO DE
ESCUMA NO TOPO DE REATORES UASB**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica & Escola de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientadores: Prof Dr. Isaac Volschan Junior

Prof^a Dra. Melissa Limoeiro Estrada Gutarra

Rio de Janeiro

2018

CIP - Catalogação na Publicação

S676a Soares, Juliana Lemos
Avaliação de efeitos da ação de enzimas sobre o acúmulo de espuma no topo de reatores UASB / Juliana Lemos Soares. -- Rio de Janeiro, 2018. 94 f.

Orientador: Isaac Volschan Jr.
Coorientador: Melissa Limoeiro Estrada Gutarra.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola Politécnica, Escola de Química, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, 2018.

1. reator UASB . 2. remoção de espuma. 3. esgoto doméstico. 4. lipases. 5. hidrólise enzimática. I. Volschan Jr, Isaac, orient. II. Gutarra, Melissa Limoeiro Estrada, coorient. III. Título.



UFRJ

AVALIAÇÃO DE EFEITOS DA AÇÃO DE ENZIMAS SOBRE O ACÚMULO DE
ESCUMA NO TOPO DE REATORES UASB

Juliana Lemos Soares

Orientadores: Prof Dr. Isaac Volschan Junior

Profª Dra. Melissa Limoeiro Estrada Gutarra

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica & Escola de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Aprovada pela Banca:

Profº. Isaac Volschan Junior, Dsc., PEA/UFRJ (Orientador)

Profª. Melissa Limoeiro Estrada Gutarra, Dsc., PEA/UFRJ (Co-orientadora)

Profª, Magali Christe Cammarota, Dsc., PEA/UFRJ

Prof. João Paulo Bassin, Dsc, COPPE/UFRJ

Profª. Ana Sílvia Pereira Santos, Dsc, FEN/UERJ

Rio de Janeiro

2018

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais que tanto se esforçaram e trabalharam muito para que eu pudesse ter sempre uma boa educação e boas oportunidades. Abrindo mão do que fosse preciso para eles para investir em meu futuro e no da minha irmã, a quem também dedico esse trabalho, por sempre acreditar em meu potencial e me incentivar.

Dedico também a todas as pessoas que acreditam que a educação pode nos levar além e que nunca desanimam em compartilhar conhecimentos e incentivar vidas.

AGRADECIMENTOS

À DEUS antes de tudo.

Aos meus pais Janeir e Marcio e a minha irmã Elisa que sempre acreditaram em mim e me impulsionaram a ser quem sou hoje.

Agradeço muito aos meus orientadores por todo o apoio, tempo despendido e pelos ensinamentos. Ao professor Isaac por ter acreditado e me inserido no projeto de pesquisa. A professora Melissa por ter sempre se disponibilizado e me ajudado em assuntos que eu pouco dominava anteriormente.

Agradeço também à professora Magali pela incansável determinação, sabedoria e ajuda, além da disponibilização do LTA para realização do experimento.

Obrigada ao PEA pelo curso de mestrado profissional e a todos os professores com quem tive o prazer de aprender e me tornar mais preparada para o desenvolvimento desse trabalho. Tenho orgulho de ter aprendido com professores tão competentes.

Obrigada a todos os meus amigos que sempre estiveram ao meu lado, me apoiaram e entenderam momentos de ausência. E obrigada também aos amigos do grupo de carona pelas viagens menos cansativas de São Gonçalo ao Fundão, em especial ao Grilo e ao Mateus pelos momentos divertidos passados no trânsito.

Obrigada à Janaína por me ajudar nas primeiras análises e sempre me incentivar. Ao Vinicius por compartilhar seus ensinamentos desde os primeiros dias no laboratório. À Fran por ter me ajudado nos momentos finais em algumas análises e também pelo carinho e amizade. E obrigada ao LTA e demais companheiros por ter me recebido durante todo esse período e por toda a estrutura disponível.

Obrigada a todos do CESA e do LEMA pelo carinho, apoio e suporte que me foi dado durante todo o período. Em especial à Cristina, Cida, Darlize, Éder, Paulinho e Marcelo.

Obrigada também ao LaBim e ao LaMind pela estrutura e pelo apoio nas análises que precisei realizar nestes laboratórios. Em especial à Anna Cristina que me ajudou a dar início a esse trabalho.

Obrigada à Finep/CNPq pela bolsa de pesquisa concedida durante o mestrado.

Enfim, muito obrigada a todos que de alguma forma me ajudaram durante todo esse trabalho, foram muitas pessoas que me ajudaram durante esse período, sendo impossível listar todas em um só texto.

RESUMO

SOARES, Juliana Lemos. Avaliação de efeitos da ação de enzimas sobre o acúmulo de espuma no topo de reatores UASB. Rio de Janeiro, 2018. Dissertação (Mestrado) - Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica e Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Os reatores UASB (Upflow anaerobic sludge blanket) são muito utilizados no tratamento de efluentes por combinarem baixos custos de operação e boa eficiência de remoção de matéria orgânica carbonácea. Entretanto, estes possuem algumas desvantagens e uma destas é o acúmulo de espuma em seu topo, que pode, por exemplo, atrapalhar a saída do biogás e interferir na qualidade final do efluente. Nos reatores que tratam esgoto, a espuma é constituída principalmente de materiais com pouca densidade, como particulados, cabelo e gordura, possui aspecto pegajoso e sua composição e acúmulo são variáveis. Por ocasionar problemas na operação do reator esta precisa de mecanismos que impeçam sua formação, acúmulo ou que possibilitem a sua remoção. O presente trabalho avaliou a aplicação de extratos enzimáticos contendo lipases que hidrolisam a gordura contida no esgoto, reduzindo diretamente a concentração de O&G (óleos e graxas), como alternativa para resolver a questão apresentada. A aplicação foi realizada utilizando a fermentação em estado sólido (FES) para produzir enzimas a partir do fungo *Aspergillus terreus* e assim foi produzido o preparado enzimático sólido (PES). Do PES foi obtido o extrato enzimático que foi adicionado ao afluente, contendo 24 U/L, de um dos reatores UASB utilizados no estudo, sendo o outro operado sem enzimas e sob as mesmas condições. Foram feitas análises da demanda química de oxigênio (DQO) que mostraram uma boa adaptação dos microrganismos à adição de enzimas e análises de ácidos voláteis totais (AVT) e alcalinidade que mostraram uma boa relação mesmo quando foram produzidos mais AVT no Reator UASB 1, com enzimas. A aplicação das enzimas possibilitou menores resultados de O&G acumulados na espuma do Reator UASB 1, sendo 1.321 mg/L contra 2.496 mg/L no Reator UASB 2, na primeira remoção da espuma, e 877mg/L contra 1.527 mg/L respectivamente, na segunda remoção.

Palavras chave: reator UASB, remoção de espuma, esgoto doméstico, lipases, hidrólise enzimática

ABSTRACT

SOARES, Juliana Lemos. Avaliação de efeitos da ação de enzimas sobre o acúmulo de espuma no topo de reatores UASB. Rio de Janeiro, 2018. Dissertação (Mestrado) - Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica e Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors are widely used in the treatment of effluents because they combine low operating costs and good removal efficiency of carbonaceous organic material. However, these have some disadvantages and one of these is the accumulation of scum at its top, which can, for example, disrupt the biogas outlet and interfere with the final quality of the effluent. The scum consists mainly of materials with low density, such as particulates, hair and fat, has a sticky appearance and its composition and accumulation are variable. Due to the problems in the operation of the reactor this needs mechanisms that prevent its formation, accumulation or make possible its removal. For this purpose, this work analyzed the application of enzymatic extract, with lipases, that hydrolyze fat present in the effluent, directly reducing the concentration of oils and greases (O&G) as an alternative to solve the question presented before. The application was realized using solid state fermentation (SSF) to produce enzymes from the fungus *Aspergillus terreus* and thus was produced the solid enzyme preparation (SEP). From the SEP was obtained the enzymatic extract that was added to the incoming effluent in one of the UASB reactors used in the study, the other one was operated without enzymes and under the same conditions. Chemical oxygen demand (COD) analyzes showed a good adaptation of the microorganisms to the addition of enzymes and analyzes of total volatile acids (TVA) and alkalinity showed a good relation even when more TVA were produced in UASB reactor 1, with enzymes. The application of the enzymes allowed smaller O&G results in UASB reactor 1, having 1,321 mg/L against 2,496 mg/L in UASB reactor 2, in the first removal of scum and 877 mg/L against 1,527 mg/L respectively, in the second removal.

Keywords: UASB reactor, Scum removal, wastewater, lipases, enzymatic hydrolysis.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AT	Alcalinidade total
AVT	Ácidos voláteis totais
AGCL	Ácidos graxos de cadeia longa
CESA	Centro Experimental em Saneamento Ambiental da UFRJ
COT	Carbono orgânico total
COV	Carga orgânica volumétrica
CT	Centro de Tecnologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro
DP	Desvio padrão
DQO	Demanda química de oxigênio
DQOi	Demanda química de oxigênio inicial no efluente de alimentação do reator
DQOs	Demanda química de oxigênio final no efluente de saída do reator
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
FES	Fermentação em estado sólido
FS	Fermentação submersa
O&G	Óleos e graxas
PES	Preparado enzimático sólido
SST	Sólidos suspensos totais
SSV	Sólidos suspensos voláteis
SSF	Sólidos suspensos fixos
TDH	Tempo de detenção hidráulica
UASB	Upflow anaerobic sludge blanket (reator anaeróbio de manta de lodo)
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Digestão Anaeróbia.....	21
Figura 3.2. Representação esquemática do funcionamento de um reator UASB.	27
Figura 3.3. Fluxograma de um sistema de tratamento com reator UASB.	28
Figura 3.4. Identificação dos pontos de Acumulação de espuma em reatores UASB.	33
Figura 4.1. Diagrama simplificado com as etapas do trabalho (Fase 2).....	51
Figura 4.2. Etapas de produção do PES e obtenção do extrato enzimático	54
Figura 4.3. Etapas para obtenção do estrato enzimático.	55
Figura 4.4. Reatores UASB de bancada.	55
Figura 5.1. Topo do reator UASB.....	64
Figura 5.2. DQO de entrada e saída nas duas fases de operação dos reatores UASB 1 e 2.	65
Figura 5.3. Eficiência na remoção de DQO nas duas fases nos reatores UASB 1 e 2.	67
Figura 5.4. DQO de saída no final da segunda fase de operação.....	69
Figura 5.5. Remoção de DQO ao final da segunda fase.....	69
Figura 5.6. Gráfico com os valores de Alcalinidade de entrada e saída.....	70
Figura 5.7. Valores de AVT nos reatores UASB 1 e 2.....	72
Figura 5.8. Relação AVT/Alcalinidade nas saídas dos reatores UASB.	73
Figura 5.9. Valores de pH de entrada e saída dos reatores UASB.	74
Figura 5.10. Reator UASB 1 após o fim da primeira fase.....	76
Figura 5.11. Topo do Reator UASB 1 ao final da primeira etapa da segunda fase. ...	77
Figura 5.12. Topo do Reator UASB 2 ao final da primeira etapa da segunda fase. ...	77
Figura 5.13. Frascos com a espuma retirada dos reatores UASB ao final da primeira etapa da segunda fase.	78
Figura 5.14. Análise de O&G ao final da primeira etapa da segunda fase.....	78
Figura 5.15. Balão utilizado para análise de O&G do Reator UASB 2 após recuperação do solvente.	79

Figura 5.16. Topo do Reator UASB 1 ao final da segunda etapa da segunda fase. .80	.80
Figura 5.17. Topo do Reator UASB 2 ao final da segunda etapa da segunda fase. .80	.80
Figura 5.18. Concentrações de O&G nos reatores82	82
Figura 5.19. Gráfico com a taxa de acúmulo de O&G nos reatores83	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Vantagens e desvantagens dos processos anaeróbios.	24
Tabela 4.1. Composição do efluente sintético utilizado.....	48
Tabela 4.2. Produtos Químicos	49
Tabela 4.3. Equipamentos utilizados.....	50
Tabela 4.4. Composição química da torta de babaçu	53
Tabela 4.5. Caracterização do resíduo da ETE.....	53
Tabela 4.6. Informações dos reatores UASB de bancada	56
Tabela 4.7. Métodos analíticos utilizados.....	57
Tabela 5.1. Sólidos totais, fixos e voláteis do lodo bruto do UASB	63
Tabela 5.2. DQO de entrada e saída dos Reatores UASB 1 e 2.....	66
Tabela 5.3. Remoção de DQO nos reatores 1 e 2	68
Tabela 5.4. Resultados de AVT, Alcalinidade e relação destes na saída do efluente	71
Tabela 5.5. pH das entradas e saídas dos reatores UASB	75

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	19
2.1. Objetivo Geral	19
2.2. Objetivos específicos	19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3.1. Reatores anaeróbios	20
3.1.1. Definição e digestão anaeróbia	20
3.1.2. Aplicação	23
3.1.3. Reatores UASB	26
3.1.4. Problemas operacionais e de manutenção característicos.....	30
3.2. Origem e formação da Escuma.....	32
3.2.1. Composição da Escuma.....	32
3.2.2. Formação e acúmulo da espuma.....	33
3.2.3. Óleos e graxas na espuma	35
3.2.4. Metodologias de remoção e tratamento	37
3.3. Lipases.....	38
3.3.1. Definição.....	38
3.3.2. Principais fontes de lipases	39
3.3.3. Aplicações da lipase no tratamento de efluentes.....	40
3.3.4. Produção de Lipases por FES	43
4. MATERIAIS E MÉTODOS	47
4.1. Materiais.....	47
4.1.1. Efluente sintético empregado na alimentação dos reatores	47
4.1.2. Produtos químicos utilizados	48
4.1.3. Equipamentos utilizados.....	49
4.2. Métodos	50

4.2.1.	Delineamento Experimental.....	50
4.2.2.	Fermentação em Estado Sólido (FES)	52
4.2.2.1.	Propagação de esporos para obter a suspensão de esporos	52
4.2.2.2.	Resíduos Empregados como Meio Basal na FES	52
4.2.2.3.	Processo Fermentativo e Obtenção do Preparado Enzimático Sólido (PES).....	53
4.2.2.4.	Extração das Enzimas	54
4.2.3.	Alimentação dos reatores	55
4.2.4.	Métodos analíticos.....	57
4.2.4.1.	Determinação de Ácidos Graxos Voláteis.....	57
4.2.4.2.	Determinação de Alcalinidade Total.....	58
4.2.4.3.	Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)	59
4.2.4.4.	Determinação dos Óleos e Graxas (O&G).....	59
4.2.4.5.	Determinação do pH	60
4.2.4.6.	Quantificação da atividade lipásica	60
4.2.4.7.	Determinação dos Sólidos totais e sólidos suspensos (fixos e voláteis)	61
4.2.4.8.	Umidade.....	62
4.2.4.9.	Método estatístico	62
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
5.1.	Partida e operação continuada dos reatores UASB de bancada	63
5.2.	Demanda Química de Oxigênio	65
5.3.	AVT e alcalinidade	70
5.4.	Valores de pH nos efluentes de entrada e saída	74
5.5.	Óleos e graxas	75
5.4.1.	Primeira fase experimental	75
5.4.2.	Segunda fase experimental – 1ª etapa.....	76
5.4.3.	Segunda fase experimental – 2ª etapa.....	79

6. CONCLUSÕES.....	85
7. SUGESTÕES.....	87
8. REFERÊNCIAS	88

1. INTRODUÇÃO

Os reatores anaeróbios são reatores biológicos vastamente utilizados no tratamento de efluentes sanitários por apresentarem uma significativa remoção da matéria orgânica. Podem ser considerados como um processo de tratamento econômico por suportarem grandes volumes de efluentes em um curto período de tempo (LETTINGA et al., 1980). Na digestão anaeróbia diversos grupos de microrganismos trabalham interativamente na conversão da matéria orgânica complexa em metano, gás carbônico, água, gás sulfídrico e amônia, além de novas células bacterianas (CHERNICHARO, 2016).

Com intuito de se obter um tratamento adequado dos efluentes, os reatores anaeróbios são precedidos das etapas preliminares de gradeamento e desarenação para remoção respectivamente de sólidos grosseiros e materiais minerais pesados. E para se alcançar os níveis de lançamento exigidos pela legislação ambiental, na maioria dos países os efluentes de reatores anaeróbios necessitam de pós-tratamento para remoção da matéria orgânica remanescente, nutrientes e patógenos (LATIF et al., 2011). Processos biológicos aeróbios, tecnologias de remoção de nutrientes baseadas em processos biológicos ou físico-químicos e tecnologias de desinfecção perfazem, usualmente, o pós-tratamento dos efluentes de reatores anaeróbios.

São diversos os tipos de reatores anaeróbios aplicados ao tratamento de efluentes, os quais diferenciam-se em função da hidrodinâmica e da própria configuração do reator. O reator anaeróbio objeto deste trabalho é do tipo fluxo ascendente com manta de lodo, conhecido internacionalmente pelo acrônimo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket). O reator UASB foi inicialmente desenvolvido na Holanda, na década de 70, e passou a ser utilizado no Brasil a partir da década de 80. Em função de aperfeiçoamento da tecnologia, os reatores UASB atualmente apresentam configuração diferente da originalmente proposta.

O processo anaeróbio pode gerar energia através do biogás e produz menos lodo que o aeróbio (LEITÃO et al., 2006). A utilização de reatores UASB apresenta algumas vantagens em relação aos aeróbios convencionais quando

aplicados em locais de clima quente, porém perdem em eficácia de remoção da matéria orgânica (CHERNICHARO, 2016). Dessa forma, sua utilização é favorável no Brasil, se combinado a demais tecnologias de tratamento que garantam maior qualidade do efluente final. A ampla difusão desta tecnologia anaeróbia no Brasil é também resultado de uma busca por soluções simples e econômicas diante de um déficit sanitário no país (ABREU, 2007).

Como toda metodologia de tratamento, há também desvantagens a serem gerenciadas. Nos processos biológicos os microrganismos utilizam compostos orgânicos biodegradáveis e ocorre a formação de subprodutos, que precisam ser devidamente removidos e tratados. Segundo Chernicharo (2016), os subprodutos formados podem se apresentar na forma sólida (lodo biológico), líquida (água) ou gasosa (gás carbônico, metano entre outros). Contudo, os reatores UASB revelam também a formação de espuma, camada de materiais flutuantes, que pode ocorrer no compartimento de decantação e no interior do separador trifásico (PEREIRA, 2007; SOUZA, 2006).

Os subprodutos gerados pelo UASB durante o tratamento de efluentes precisam ser corretamente destinados ou se possível aproveitados. Um desses subprodutos é o lodo, que necessita ser descartado conforme necessidade de operação do reator. Para isto há diversas formas de manejo e tratamento já conhecidas e usualmente praticadas. Em relação a geração de gases, o biogás produzido deve ser coletado, medido e posteriormente utilizado ou queimado (CHERNICHARO, 2016)

Porém, a espuma, ainda necessita de maiores pesquisas. Sua composição e quantidade gerada depende da composição do esgoto afluente, da hidrodinâmica no interior do reator UASB e do sistema preliminar de tratamento (ROSS et al., 2016). Esta corresponde à formação e acumulação de uma camada heterogênea de materiais flutuantes, por apresentarem baixa densidade, que se origina de particulados provenientes do fluxo afluente de esgoto (SANTOS, 2014). Dentre seus constituintes estão gordura, óleos, ceras, sabões, restos de alimentos, cascas de frutas e vegetais, cabelo, papel e algodão, pontas de cigarro, materiais plásticos e similares (SOUZA, 2006).

A presença de espuma pode interferir na operação do reator ao flotar e formar uma barreira, podendo prejudicar não só o desempenho do sistema em termos de qualidade do efluente, mas também ocasionar perdas de biogás (ROSS et al., 2016). Esta pode interferir na qualidade do efluente tratado ao se depositar na superfície do decantador e ser liberada indevidamente junto ao mesmo, reduzindo assim sua qualidade final.

Para solucionar o problema da espuma, há algumas metodologias de remoção que geralmente estão relacionadas a uma remoção física. Estas costumam requerer dispositivos específicos instalados no reator, o que nem sempre é viável para reatores que já estão instalados ou em operação. Com intuito de evitar o acúmulo de espuma alguns trabalhos têm estudado a utilização de enzimas, uma vez que a aplicação de lipases no tratamento de efluentes com alto teor de gordura pode ser vista como uma alternativa ou um complemento aos processos biológicos anaeróbios (CAMMAROTA et al., 2013).

A aplicação de enzimas permite o tratamento específico de compostos recalcitrantes, tornando-os mais biodegradáveis (DUARTE, 2013). Sua utilização no tratamento de efluentes domésticos e industriais, e também no tratamento das espumas geradas nos reatores aeróbios e anaeróbios, vem sendo estudada e empregada, uma vez que estas enzimas atuam na hidrólise dos O&G presentes no efluente, prevenindo assim os problemas operacionais gerados por estes (LIMA, 2016).

O uso de preparados enzimáticos de baixo custo é vital, uma vez que o uso de preparados enzimáticos comerciais de alto custo tornaria o procedimento de pré-tratamento inviável do ponto de vista do tratamento de efluentes (CAMMAROTA; FREIRE, 2006). Para a redução de custos pode-se utilizar para a produção de enzimas a fermentação em estado sólido, que apresenta custo bastante reduzido, uma vez que o meio de cultivo pode ser constituído por um resíduo agroindustrial (DUARTE, 2013). Essa fermentação tem como produto um preparado enzimático sólido (PES) que pode ser adicionado diretamente ao tratamento para tornar a espuma mais biodegradável ou um

preparado enzimático líquido que é produzido a partir da extração das enzimas dos sólidos fermentados em solução aquosa.

Na literatura há trabalhos onde foi aplicada uma pré - hidrólise enzimática em efluentes industriais para a degradação dos O&G presentes em alta concentração. Segundo Duarte (2013), o pré-tratamento possibilita a conversão de compostos orgânicos complexos na forma de gorduras e proteínas, antes descartadas como resíduos sólidos problemáticos, em metano, o qual pode ser aproveitado como fonte de energia na própria indústria. Valladão et al (2010) obtiveram resultados que sugerem claramente a importância e eficiência da aplicação de enzimas no pré-tratamento de efluentes de matadouros. No reator alimentado com efluente previamente hidrolisado maiores valores de produção de metano e de remoção de DQO foram obtidos e não ocorreram problemas operacionais, como no reator de controle.

A hidrólise enzimática aplicada ao tratamento de efluentes pode solucionar alguns problemas causados pela espuma nos reatores anaeróbios devido à presença elevada de O&G. Essa aplicação vem sendo estudada principalmente em tratamento de efluentes com alto teor de gordura (CAMMAROTA; FREIRE, 2006; DUARTE, 2013; ADULKAR; RATHOD, 2014; DAMASCENO; FREIRE; CAMMAROTA, 2014).

Entretanto, o estudo dessa hidrólise em reatores anaeróbios tratando efluente doméstico é necessário, uma vez que a espuma também ocorre nestes. Lima (2016) efetuou ensaios em frascos de penicilina combinando pré - hidrólise enzimática e tratamento anaeróbio na espuma proveniente de reator UASB tratando efluente doméstico e obteve resultados eficientes. Dessa forma, almeja-se uma aplicação das enzimas diretamente nos reatores UASB, para que seja possível avaliar os efeitos dessa aplicação e reduzir ou evitar os problemas causados pela espuma acumulada no topo destes.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da aplicação de enzimas sobre o acúmulo de espuma no topo de reatores UASB, tratando efluente doméstico, através da adição de extrato enzimático contendo lipases junto a alimentação. Com esta adição espera-se reduzir o acúmulo da espuma, melhorar a operação dos reatores e aumentar a biodegradabilidade da matéria orgânica disponível.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar as condições operacionais e requisitos de manutenção de reatores UASB em escala de bancada, com e sem a adição do extrato enzimático contendo lipases;
- Avaliar o acúmulo de espuma nos dois reatores UASB com e sem adição do extrato enzimático contendo lipases;
- Avaliar os valores de DQO, AVT e alcalinidade com e sem a adição do extrato enzimático contendo lipases;
- Comparar os resultados de O&G acumulados na espuma de ambos os reatores UASB após a adição do extrato enzimático em um destes.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Para o desenvolvimento deste trabalho é necessário maior conhecimento da fundamentação teórica acerca dos temas abordados durante essa pesquisa. Dessa forma, esse capítulo apresenta uma breve elucidação dos tópicos mais relevantes à compreensão do estudo.

3.1. Reatores anaeróbios

3.1.1. Definição e digestão anaeróbia

Os reatores usados para tratamento de efluentes proporcionam transformações ocasionadas por fenômenos químicos ou biológicos. Nestes ocorre modificação na natureza dos constituintes dos esgotos, com decréscimo da massa de uma ou mais substâncias, porém, com formação de massa de outros produtos intermediários ou finais, dependendo das reações envolvidas (CAMPOS, 1999). Quando a reação ocorre por intermédio de microrganismos (bactérias, protozoários, fungos e outros), tem-se um biorreator ou reator biológico. A base de todo processo biológico é o contato efetivo entre esses organismos e o material orgânico dos efluentes para que este possa ser utilizado como alimento pelos microrganismos (VON SPERLING, 2014).

A essência dos processos biológicos de tratamento de esgotos reside na capacidade dos microrganismos envolvidos utilizarem os compostos orgânicos biodegradáveis, transformando-os em subprodutos, que podem ser removidos do sistema (CHERNICHARO, 2016). Essa capacidade requer a manutenção de condições ambientais favoráveis, como temperatura, pH, tempo de contato e outros (VON SPERLING, 2014). A decomposição biológica pode ser do tipo aeróbia ou anaeróbia dependendo da presença de oxigênio no reator para o desempenho das reações bioquímicas.

Na presença de oxigênio ocorre a degradação aeróbia que conta com altas velocidades de assimilação e metabolização do substrato e maior formação de biomassa (SANT'ANNA JR, 2013). Na degradação anaeróbia a reação ocorre na ausência de oxigênio livre, com velocidades mais baixas e a produção de biomassa é menor. De acordo com Chernicharo (2016), é possível

degradar por via anaeróbia todos os compostos orgânicos, porém o processo é mais eficiente e mais econômico com materiais facilmente biodegradáveis.

Segundo Sant'anna Jr (2013), a degradação anaeróbia possui maior grau de complexidade por demandar participação de diferentes grupos microbianos com funções diferenciadas. Esses grupos de microrganismos atuam em sistemas ecológicos balanceados, envolvendo processos metabólicos complexos que ocorrem em etapas sequenciais (CHERNICHARO, 2016). Essas etapas envolvem reações bioquímicas de Hidrólise, Acidogênese, Acetogênese e Metanogênese.

Nesse processo, o material orgânico é convertido em compostos mais simples, possibilitando uma melhor qualidade do efluente e gerando biogás, que contém considerável quantidade de metano. O diagrama da Figura 3.1 ilustra as etapas do processo de digestão anaeróbia.

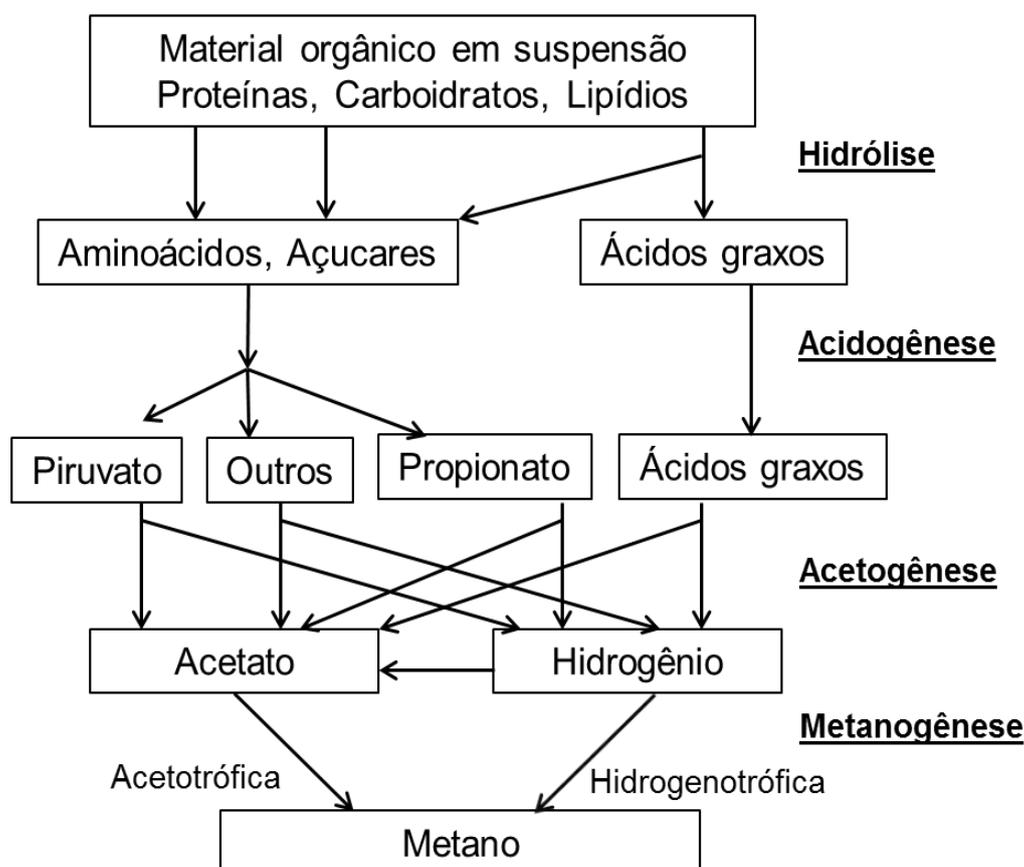


Figura 3.1. Etapas do processo de digestão anaeróbia

Fonte: Adaptado de CAMPOS, 1999

As etapas apresentadas no diagrama da Figura 3.1 estão resumidamente explicadas a seguir, conforme descrito em Chernicharo (2016) e Sant'anna Jr (2013):

Hidrólise

Bactérias fermentativas de diferentes gêneros excretam enzimas hidrolíticas que atuam em materiais orgânicos complexos, com alta massa molar, e em materiais orgânicos presentes na forma particulada. Nessa etapa macromoléculas como polissacarídeos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos são transformadas em substâncias de menor massa molar, tais como monossacarídeos, aminoácidos, glicerol, ácidos orgânicos entre outros, sendo estas de mais fácil assimilação pelas bactérias fermentativas.

Acidogênese

Os produtos solúveis resultantes da etapa anterior podem ser então metabolizados no interior das células através do metabolismo fermentativo produzindo diversos compostos mais simples como ácidos orgânicos, álcoois, cetonas, dióxido de carbono, hidrogênio e novas células bacterianas. Nessa etapa são produzidos os ácidos voláteis, que possuem menor número de carbonos e são solúveis em água.

Acetogênese

Etapa crítica do processo onde bactérias acetogênicas estabelecem relação de sintrofia com as arqueas metanogênicas e as bactérias homoacetogênicas. As acetogênicas oxidam os compostos orgânicos intermediários e os ácidos de maior cadeia são transformados em ácidos com apenas um ou dois átomos de carbono. Uma consequência desse processo é a produção de hidrogênio, necessitando assim de microrganismos que o consumam uma vez que a produção de acetato é inibida pela presença do hidrogênio. Outro inibidor é o próprio acetato, que também necessita estar em baixas concentrações.

Metanogênese

Nessa etapa final o carbono que estava presente na matéria orgânica passa a ser constituinte do metano ou do gás carbônico pela ação de microrganismos metanogênicos, pertencentes ao domínio *Archaea*. Este

processo pode ser entendido como uma respiração anaeróbia onde o gás carbônico ou o grupo metil de compostos C-1, ou o carbono do grupo metil do acetato é o aceptor de elétrons. Dessa forma, é na metanogênese que ocorre efetivamente a mineralização dos poluentes (compostos de carbono).

3.1.2. Aplicação

Os reatores anaeróbios foram inicialmente aplicados para tratar efluentes com altas concentrações de DBO e DQO, como é o caso dos efluentes industriais e só a partir da década de 90 passaram a ser empregados no tratamento de efluentes menos concentrados, como os esgotos domésticos (JORDÃO, 2011). A utilização no tratamento de efluentes domésticos depende da temperatura em que estes se encontram devido à baixa atividade dos microrganismos anaeróbios em temperaturas inferiores a 20°C (CHERNICHARO, 2016). Por isso, no caso de esgotos domésticos, o tratamento anaeróbio é mais atrativo em locais de clima quente, pois estes em geral apresentam menor concentração de matéria orgânica e menor geração de metano. Já para os efluentes industriais, que são normalmente mais concentrados e podem produzir maior quantidade de metano, seu uso também pode ocorrer em locais mais frios, pois o metano pode ser utilizado no aquecimento do reator.

Ao longo do tempo surgiram novas propostas de modelos de reatores, impulsionando o uso destes, uma vez que estas garantiam maior retenção da biomassa, ponto crucial no tratamento anaeróbio que possui taxas de crescimento microbiano menores que no aeróbio (SANT'ANNA JR, 2013). Outras características que impulsionam o uso dos reatores anaeróbios são os custos baixos, porque são utilizados reatores tecnicamente simples e relativamente baratos, e o baixo consumo de energia, uma vez que os sistemas anaeróbios podem ser operados com pouco ou nenhum consumo de energia (LETTINGA, 1995). Sua aplicabilidade no tratamento de efluentes dependerá do conhecimento de suas características e da compatibilidade destas com a composição do efluente a ser tratado e do resultado final esperado. Para melhor conhecimento dessas características pode-se observar a Tabela 3.1

que apresenta algumas das principais vantagens e desvantagens dos processos anaeróbios.

Tabela 3.1. Vantagens e desvantagens dos processos anaeróbios.

Vantagens	Desvantagens
Baixa produção de sólidos, cerca de 2 a 8 vezes inferior à que ocorre nos processos aeróbios;	Remoção de nitrogênio, fósforo e patógenos insatisfatória;
Baixa demanda de área;	Produção de efluente com aspecto desagradável e usualmente com qualidade insuficiente para atender aos padrões ambientais, conseqüentemente pode necessitar de pós tratamento;
Baixos custos de implantação, da ordem de 20 a 30 dólares por pessoa;	
Geração de metano, gás combustível que possui alto poder calorífico;	Possibilidade de distúrbios devido a choques de carga orgânica e hidráulica, presença de compostos tóxicos ou ausência de nutrientes;
Possibilidade de preservação da biomassa do reator mesmo sem alimentação por vários meses;	
Tolerância a elevadas cargas orgânicas;	Possibilidade de geração de maus odores e de problemas de corrosão, porém controláveis;
Aplicabilidade em pequena e grande escala.	A partida do processo pode ser lenta na ausência de lodo de sementeira adaptado.

Fonte: Adaptado de Chernicharo (2016)

De acordo com Lettinga (1995), para que um reator anaeróbio receba e trate com alta taxa um efluente específico, as seguintes condições devem ser atendidas:

- Alta retenção de lodo no reator, pois quanto maior a quantidade retida, maior o potencial de carga do sistema, sendo necessário cultivar uma biomassa bem instalada ou imobilizada;
- Contato suficiente entre microrganismos e águas residuais;
- Altas taxas de reação e facilidade de transporte dos produtos finais metabólicos possibilitando estes escaparem facilmente do agregado. O tamanho dos biofilmes deve permanecer relativamente pequeno e a acessibilidade dos organismos dentro do biofilme deve ser alta;
- A biomassa viável deve ser suficientemente adaptada e aclimatada, sendo adaptável às águas residuais afluentes;

- Prevalência de condições ambientais favoráveis para todos os organismos dentro do reator, sob todas as condições operacionais impostas.

A aplicação dos reatores anaeróbios ao sistema de tratamento é comumente combinada com demais etapas que propiciam maior remoção de matéria orgânica. Independente do modelo é fundamental que o reator anaeróbio seja precedido por uma grade, uma caixa de areia e um medidor de vazão (JORDÃO, 2011). Dessa forma necessitam obrigatoriamente da etapa preliminar, para remoção de sólidos grosseiros e materiais minerais pesados. Entretanto não necessitam de uma etapa primária de tratamento, como remoção física de carga orgânica. Em relação à aplicação de etapa posterior de tratamento, esta dependerá das exigências ambientais para o local de despejo, uma vez que a eficiência do tratamento anaeróbio é limitada, obtendo faixas de remoção de DQO de 40 a 75% e DBO de 45 a 85%, sendo esta variação dependente principalmente do tempo de detenção hidráulica (TDH) (JORDÃO, 2011).

De acordo com Campos (1999), os reatores anaeróbios podem ser suficientes para resolverem os problemas causados por esgotos, dependendo da classe do corpo receptor, ou podem anteceder unidades mais eficientes. No entanto, dificilmente o efluente final atende aos padrões requisitados pela legislação ambiental, sendo necessária uma etapa de pós-tratamento (CHERNICHARO, 2016). Esta etapa pode ser uma lagoa de polimento, um filtro anaeróbio, um filtro biológico percolador, lodos ativados, um tanque de flotação com ar dissolvido, dentre outros. O principal papel do pós-tratamento é o de completar a remoção da matéria orgânica, bem como o de proporcionar a remoção de constituintes pouco afetados no tratamento anaeróbio, como os nutrientes (N e P) e os organismos patogênicos (vírus, bactérias, protozoários e helmintos) (CHERNICHARO, 2001).

Os sistemas anaeróbios de alta taxa podem ser classificados, segundo Chernicharo (2016), em dois grandes grupos de acordo com o tipo de crescimento da biomassa: crescimento disperso e crescimento aderido, relativos aos flocos ou grânulos de microrganismos estarem livres ou aderidos

a um material inerte, respectivamente. Os reatores de crescimento aderido podem ser do tipo fixo, rotatório ou expandido, como o filtro anaeróbio, o biodisco anaeróbio e o reator de leito expandido respectivamente. Entre os reatores com crescimento disperso estão os reatores de dois estágios, de chicanas e o UASB. No último, o leito de lodo é basicamente formado por acúmulo de sólidos em suspensão e crescimento bacteriano (LATIF et al., 2011).

O reator UASB ganhou grande notoriedade no Brasil e com investimentos do Ministério da Ciência e Tecnologia foram possíveis mais pesquisas e desenvolvimento tecnológico, ampliando mais a sua aplicação pelo país (JORDÃO, 2011).

3.1.3. Reatores UASB

De acordo com Sant'anna Jr (2013), os reatores UASB constituem-se na principal tendência atual de tratamento de esgotos no Brasil, como unidades únicas, ou seguidas de alguma forma de pós tratamento. São unidades que se prestam fundamentalmente à remoção de matéria orgânica carbonácea (DQO ou DBO decorrentes de carboidratos, proteínas, lipídeos ou seus metabólitos) em suspensão ou dissolvida nas águas residuárias (SOUZA, 2006). Esses reatores são verticais com leito e manta de lodo, responsáveis pela estabilização da matéria orgânica, e em seu topo estão localizados geralmente as saídas de efluente tratado e coletores de biogás. O processo consiste de um fluxo ascendente de efluente através de um leito de lodo denso e de elevada atividade, onde o fluxo ascendente das bolhas de biogás promovem a mistura do sistema (CHERNICHARO, 2016).

Sua configuração não necessita de material inerte para crescimento da biomassa (leito e manta de lodo), estando estes microrganismos livres, caracterizando o crescimento disperso. A retenção do lodo ativo, seja granular ou floculante, dentro do reator UASB permite um bom desempenho de tratamento mesmo com elevadas taxas de carga orgânica afluente (LATIF et al., 2011). Na Figura 3.2 é possível visualizar a configuração do reator e seu processo através de sua representação esquemática.

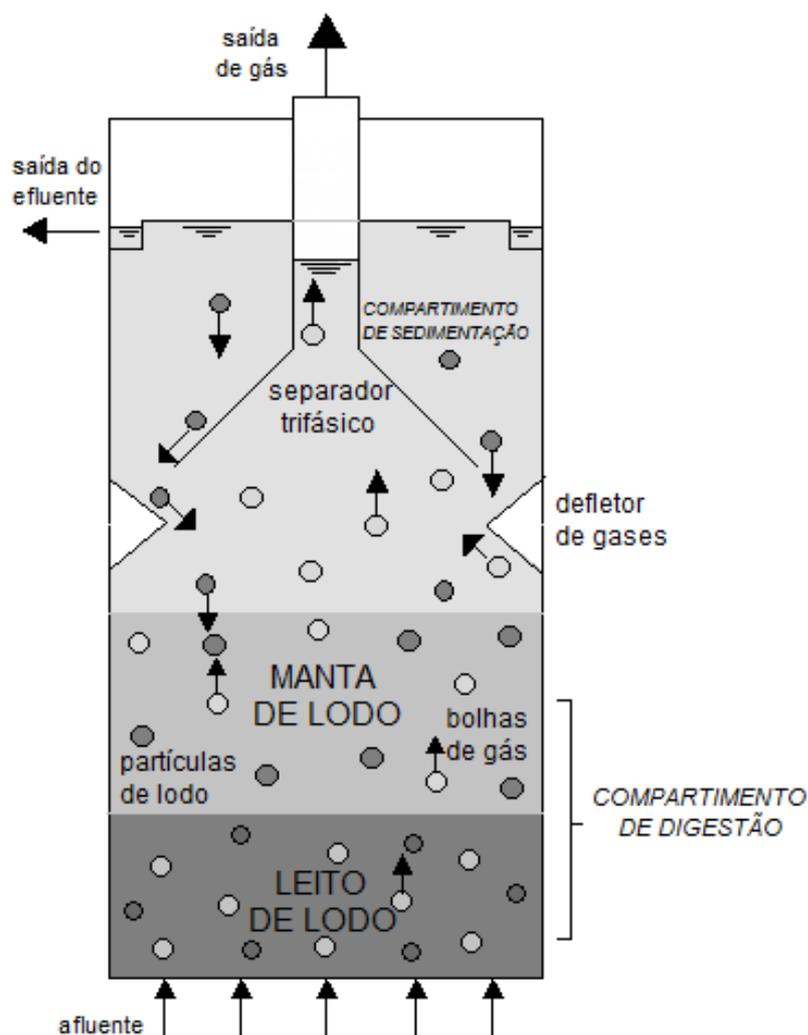


Figura 3.2. Representação esquemática do funcionamento de um reator UASB.

Fonte: Adaptado de Von Sperling, 2014.

As funções das partes do reator UASB estão descritas a seguir de acordo com Jordão (2011) e Von Sperling (2014):

- Compartimento de digestão: Zona de reação formada pela manta e leito de lodo, onde ocorre a digestão anaeróbia após o esgoto afluir pelo fundo do reator com fluxo ascendente. O perfil de sólidos varia de muito denso e com partículas granulares de elevada capacidade de sedimentação próximo ao fundo (leito de lodo), até um lodo mais disperso e leve mais próximo ao topo (manta de lodo).
- Separador trifásico: Dispositivo que fisicamente caracteriza uma zona de sedimentação e uma câmara de coleta de gases. Separa a fase sólida (da câmara de digestão), da líquida e gasosa. Conta com o auxílio do defletor de gases para que esse processo de separação ocorra.

- Compartimento de sedimentação: O esgoto chega aos vertedores de superfície com velocidade ascensional que possibilita a sedimentação de sólidos e flocos. Essas partículas sedimentam nas paredes externas do separador, sendo estas inclinadas, induzindo - as a retornarem ao compartimento de digestão. Dessa forma ocorre a retenção da biomassa por retorno gravitacional.

A região entre o compartimento de digestão e o compartimento de sedimentação pode ser chamada de zona de transição, na qual, em função do processo de degradação anaeróbia, o esgoto já possui carga orgânica muito inferior ao afluente, porém esta ainda poderá ser reduzida pela sedimentação de demais partículas. No topo do separador trifásico tem-se um compartimento de acumulação de gases, onde o gás liberado no compartimento de reação, em forma de bolhas, pode ser coletado e conduzido para a queima e/ou purificação (VON SPERLING, 2014).

Conforme dito anteriormente, os reatores UASB vêm sendo amplamente aplicados ao tratamento de efluentes. Estes necessitam de menos espaço e ainda produzem energia como biogás, podendo ser aplicados em várias combinações distintas em estações de tratamento (LATIF et al., 2011). Um esquema com reator UASB e pós tratamento composto de lodos ativados e decantador secundário pode ser visto na Figura 3.3.

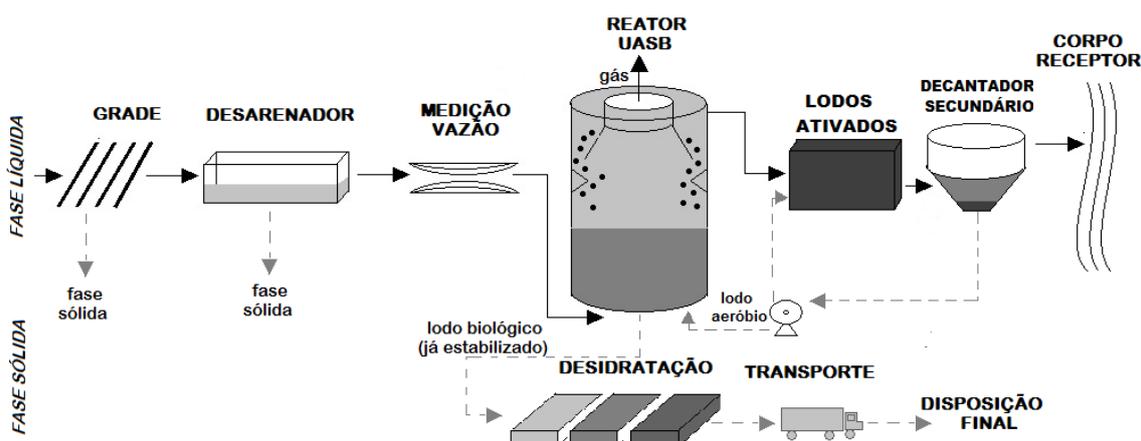


Figura 3.3. Fluxograma de um sistema de tratamento com reator UASB.

Fonte: Adaptado de Von Sperling, 2014

Para um bom funcionamento do reator UASB é necessário um bom contato entre a biomassa e o substrato, um TDH suficiente, um separador trifásico bem

projetado e um lodo com alta atividade metanogênica específica (AME) (CHERNICHARO, 2016). Segundo Jordão (2011), é possível minorar os fatores adversos à eficiência do reator UASB através de:

- Remoção de sólidos grosseiros e flutuantes: através de um gradeamento eficiente, preferencialmente com grades ultrafinas, com espaçamento de até 6 mm;
- Remoção de areia: é fundamental que haja um desarenador para que estas partículas não entrem no sistema e não ocorra entupimento dos orifícios e ramais de distribuição de esgoto;
- Distribuição adequada do esgoto afluyente: é necessário que seja feita uma distribuição regular através de tubulações alimentadas individualmente e recomenda-se que seja atendida uma área da ordem de 2 a 3 m² por ponto de entrada. O diâmetro dos tubos de distribuição deve ser de pelo menos 50mm, sendo preferencialmente 75 ou 100mm;
- Velocidade ascensional no interior do reator: na zona de sedimentação e na zona de transição é necessário que o esgoto mantenha velocidade compatível com a forma de escoamento desejada até alcançar o vertedor de coleta do efluente, onde se caracterizará uma taxa de vazão superficial;
- Remoção da espuma: retirando-a ou reinjetando-a para degradação no interior do reator, evitando a perda de matéria graxa no efluente.
- Volume do reator adequado: relacionado ao tempo de detenção hidráulica (de 6 a 10 horas) e a carga orgânica aplicada. As dimensões resultantes na unidade devem ser compatíveis com a velocidade ascensional no interior do reator.

O reatores UASB apresentam amplas vantagens, tais como baixa demanda de área, baixo custo de implantação e operação, baixa produção de lodo, satisfatória eficiência de remoção de DQO e DBO, possibilidade de rápido reinício após longas paradas, dentre outras (CHERNICHARO, 2016). Um dos grandes méritos dessa tecnologia é tratar águas residuárias por via anaeróbia em alta taxa, ou seja, com baixos tempos de detenção hidráulica (TDH), mas

com elevados tempos de retenção de sólidos (TRS) e com baixo crescimento celular (SOUZA, 2010).

Entretanto, algumas desvantagens significativas ainda podem ser observadas, tais como: baixa capacidade do sistema em tolerar cargas tóxicas, elevado intervalo de tempo necessário para a partida do sistema e necessidade de uma etapa de pós tratamento (CAMPOS, 1999; CHERNICHARO, 2016). Outras desvantagens, segundo Latif et al. (2011), é a produção de sulfeto de hidrogênio, especialmente quando há altas concentrações de sulfato no efluente, podendo causar odores e corrosão, e a remoção apenas parcial de patógenos.

3.1.4. Problemas operacionais e de manutenção

Os principais problemas operacionais e de manutenção dos reatores UASB residem na eventual formação de curto-circuitos hidráulicos, na geração de odores, na corrosão da estrutura e na formação de espuma no topo dos reatores.

Curto-circuito hidráulico

A presença de caminhos preferenciais na manta de lodo pode causar um curto-circuito hidráulico, diminuindo o tempo de detenção hidráulica (TDH) e, conseqüentemente, o tempo de contato entre a biomassa e potenciais substratos (TEIXEIRA et al., 2009). Nesse caso a degradação de matéria orgânica ocorre de forma ineficiente e a qualidade do efluente final é reduzida. Outro problema que pode ocorrer frequentemente é o entupimento das tubulações de alimentação e eventualmente do dispositivo de coleta do efluente (CHERNICHARO, 2016), estando estes geralmente relacionados a uma deficiência do tratamento preliminar.

Odor

Em estações de tratamento de esgotos pode ocorrer a geração de maus odores, o que requer uma gestão de emissões odorantes. Em boa parte dos casos, não existe uma indicação clara da origem da emissão, a qual pode estar relacionada com as características do esgoto afluente, com o desempenho do

reator, ou com a descarga turbulenta do efluente (GLÓRIA, 2009). Quanto mais anaeróbio for o processo de tratamento, mais compostos odorantes serão formados (SILVA, 2007). Nos processos anaeróbios de tratamento de esgotos os compostos odorantes são: gás sulfídrico, mercaptanas, amônia, aminas com baixa massa molecular, indol, escatol, ácidos graxos voláteis, álcoois, aldeídos, cetonas e ésteres (CHERNICHARO, 2016).

O gás sulfídrico, ou sulfeto de hidrogênio (H_2S), é comumente citado em destaque em trabalhos que estudam os odores em estações de tratamento de esgoto, tais como Chernicharo et al. (2010) e Silva (2007), sendo este resultante da redução biológica do sulfato (SO_4^{2-}) ou tiosulfato sob condição anaeróbia. Este é um gás incolor, inflamável, com odor de ovo podre e solúvel em água, formado na decomposição anaeróbia de compostos orgânicos sulfurosos ou pela redução de sulfitos minerais ou sulfatos, porém não é formado na presença abundante de oxigênio (SOUZA, 2010).

Corrosividade

Somada ao odor há a corrosividade, uma vez que o sulfeto de hidrogênio, em solução aquosa, pode apresentar propriedades corrosivas (SOUZA, 2010). A passagem dos sulfetos para a atmosfera interna dos tanques e condutos de esgoto também causa a corrosão dessas partes (CHERNICHARO, 2016). Sendo assim, a geração desse gás pode também ocasionar problemas relacionados à corrosão de estruturas metálicas e de concreto, além da geração de mau cheiro (GLÓRIA, 2009). Essa corrosividade pode comprometer a vida útil dos componentes do sistema de tratamento e requerer maiores investimentos em manutenção, gerando mais custos no processo.

Escuma

Por fim, outro ponto importante a ser gerido em um reator UASB é a espuma que pode vir a acumular em seu topo. Do ponto de vista do controle de odor este pode ser um ponto positivo, pois a espuma acumulada na superfície líquida dos decantadores pode favorecer o desenvolvimento e a retenção de microrganismos que oxidam os sulfetos gerados no reator (SOUZA, 2006). Entretanto, o acúmulo desse material traz problemas operacionais que

interferem na qualidade final do efluente e na geração de biogás. Por isso, é objeto do presente trabalho estudar e aplicar uma tecnologia que visa promover a ação enzimática e, por conseguinte, a facilitação do processo de degradação anaeróbia de compostos orgânicos presentes na espuma de topo de reatores UASB. Neste sentido, os itens seguintes discorrem mais detalhadamente sobre o tema.

3.2. Origem e formação da Espuma

3.2.1. Composição da Espuma

A espuma constitui-se de uma camada de materiais flutuantes que se desenvolve na superfície de reatores anaeróbios (CHERNICHARO, 2016). Esta corresponde à formação e acumulação de uma camada heterogênea de materiais com baixa densidade, que se origina de particulados provenientes do fluxo afluyente de esgoto e é gerada no processo de tratamento anaeróbio de águas residuárias (SANTOS, 2014). Souza (2006) define a espuma de uma forma mais completa, como sendo a camada potencialmente heterogênea que se origina de materiais particulados provindos do afluyente ou de lodo biológico gerado no processo de tratamento, a partir da característica comum de baixa densidade, e intensificada por fluxos fluídicos ascensionais, de água ou gás.

Os materiais constituintes dessa camada são menos densos que a água, insolúveis e/ou de mais difícil degradação e podem acumular no interior do separador trifásico ou na superfície do decantador. A espuma formada nesses dois locais apresenta diferenças entre si sob o prisma quantitativo e qualitativo, na medida em que os dois ambientes citados são diferentes e se dispõem a funções distintas (CAMARGO, 2016). Os dois locais de acúmulo de espuma podem ser vistos na Figura 3.4 a seguir.

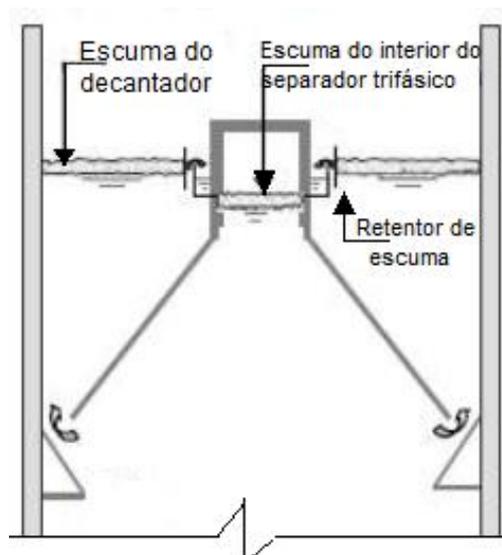


Figura 3.4. Identificação dos pontos de acúmulo de espuma em reatores UASB.
 Fonte: Chernicharo (2016)

A análise visual da espuma mostra que se trata de um material tipicamente oleoso, pegajoso, com odor fétido forte (PEREIRA, 2007). A composição e quantidade gerada de espuma irão depender da composição do esgoto afluyente e do sistema preliminar de tratamento (ROSS, 2015). O sistema preliminar de tratamento influencia ao permitir a passagem de objetos pequenos e menos densos, que auxiliam na formação dessa camada por funcionarem como uma superfície suporte onde os compostos podem se prender e se acumular.

De acordo com Chernicharo (2016), a espessura da camada de espuma acumulada em reatores UASB depende principalmente da composição do substrato, destacando a quantidade de sólidos suspensos e de óleos e graxas. Por fim, entende-se a espuma como uma camada de materiais como graxas, gorduras, matérias vegetais, plásticos, cabelos, produtos de borracha e células microbiológicas mortas, isto é, produtos com massa específica menor que 1 (SOUZA, 2006).

3.2.2. Formação e acúmulo da espuma

A formação da espuma ocorre devido ao processo de tratamento, quando esta surge à superfície mantendo sua integridade, independente do tempo de duração do processo, e sua acumulação dependerá de sua decomposição ser menor que a sua formação (SOUZA, 2006). Assim, a

acumulação ocorre a partir da diferença entre formação e decomposição deste material. Este material oleoso pode acumular e reduzir significativamente o volume efetivo de um digestor por estar em grande parte indisponível para os microrganismos anaeróbios, pois muito pouco deste é acessível às enzimas hidrolíticas (HARRIS; MCCABE, 2015).

Na superfície do decantador, como mostra a Figura 3.4, o acúmulo só ocorrerá caso este seja equipado com retentores de espuma, ou caso a coleta do efluente final seja realizada por tubulação perfurada ou calha afogada, caso contrário, a espuma verte com o efluente (PEREIRA, 2007). Outro ponto, segundo Chernicharo (2016), a respeito da taxa de acumulação de espuma na superfície dos decantadores, é o correto gerenciamento do lodo, uma vez que a não retirada do lodo excedente acarreta na maior perda de sólidos para o compartimento de decantação, os quais ajudam a compor a camada de espuma, tornando-a assim mais volumosa.

Entretanto, a espuma acumulada na superfície do decantador pode ter um importante papel no controle de odores gerados. Quando esta possui coloração esverdeada ou marrom, pode possuir microrganismos que oxidam o sulfeto (SANTOS, 2014). Porém, essa presença só apresenta esse benefício no caso dos decantadores serem expostos à atmosfera, funcionando a espuma como um barreira de retenção de gases.

No separador trifásico, a presença da espuma pode ser vista como ainda mais problemática por impedir a liberação do biogás, fazendo com que este migre para a zona de decantação e leve consigo partículas de lodo, prejudicando a qualidade do efluente final (PEREIRA, 2007). Essa região é entendida como uma zona mais estagnada e por isso a espuma pode acumular e solidificar mais facilmente.

Depois de formada, a camada de espuma pode acumular em intensidade na superfície de um reator se não houver mistura para dispersá-la, ficando mais sólida e de mais difícil degradação (SOUZA, 2006). Essa mistura depende da velocidade ascensional do fluido no interior do reator e da produção de biogás. Dessa forma, entende-se que a liberação de gases atua

sobre a camada de espuma podendo agir de forma a controlar sua espessura e sua consistência.

Ao ocorrer a formação de uma camada mais sólida de espuma esta pode impedir a liberação do biogás, fazendo a pressão no interior do reator subir. Com isso, após certo tempo, a partir da contínua produção do biogás, pode ocorrer uma ruptura dessa camada, causando problemas na captação do biogás e possíveis danos aos dispositivos utilizados para a sua captação.

Ressalta-se assim que o acúmulo de espuma representa um importante problema na operação de reatores UASB e que o seu gerenciamento deve ser atentamente realizado. Entre as duas regiões com potencial de formação de espuma existem diferenças funcionais bastante importantes, tais como o maior fluxo de gases no interior do separador trifásico e o maior fluxo da fase líquida no decantador (CAMARGO, 2016). Destaca-se ainda que o separador trifásico pode ser considerado o ponto principal para o controle da espuma por apresentar-se como aquele com maior potencial de acúmulo (SANTOS, 2014).

3.2.3. Óleos e graxas na espuma

A espuma pode ser classificada como um resíduo complexo e, durante a sua biodegradação, a etapa considerada limitante e mais lenta é a hidrólise de lipídios, e consequente liberação de ácidos graxos (ROSS, 2015). Substâncias de origem animal e vegetal, constituídas por óleos e gorduras, identificados e quantificados analiticamente como óleos e graxas (O&G) são a fração orgânica mais relevante para o processo em função da sua baixa biodegradabilidade (SANTOS, 2014).

Óleos e graxas englobam substâncias, como óleos, graxas, ceras, ácidos graxos, provenientes de resíduos alimentares como a manteiga, margarina, gorduras de origem vegetal e animal, óleos vegetais, além da matéria oleosa devido à presença de lubrificantes utilizados nos estabelecimentos industriais, principalmente refeitórios industriais, lanchonetes e restaurantes (MELO et al., 2002). De acordo com Ross (2015), óleos e graxas são gorduras, ceras, ácidos graxos livres, sabões, óleos minerais e outros materiais que podem ser extraídos por hexano.

De uma forma geral, o teor de óleos e graxas (TOG) é um importante parâmetro a ser analisado, pois em quantidades elevadas pode ocasionar problemas nas estações de tratamento de efluentes, como acúmulo indesejado de material flotante na digestão anaeróbia (MELO et al., 2002). Esse valor nos efluentes domésticos pode variar de acordo com os hábitos da população sendo descritos por Von Sperling (2014) a concentração de O&G de até 170 mg/L, por Ross (2015) 131 mg/L de O&G e por Lima (2016) 164 mg/L.

Os trabalhos que abordam a espuma em reatores UASB possuem objetivos diferentes e seguem metodologias distintas de acordo com os resultados que desejam alcançar, além de possuírem águas residuais afluentes com diferentes concentrações e reatores UASB de diferentes modelos. Por isso, é difícil comparar o teor de óleos e graxas encontrados na espuma em diferentes estudos. Alguns trabalhos com espuma formada em reatores alimentados com efluentes domésticos, tais como Versiani (2005), Souza (2006) e Pereira (2007), avaliaram a taxa de acúmulo da espuma ao longo do tempo de acordo com os parâmetros de operação e Ross et al., (2016) avaliaram a taxa de decaimento dos O&G na espuma.

Souza (2006) encontrou resultados da ordem de 15.000 a 28.000 mg/L para a porção de lipídios na espuma em diferentes fases de operação, que duraram em torno de 60 dias cada, com diferentes TDH e DQO afluente compreendida entre 363 e 472 mg/L. Versiani (2005) operou um mesmo reator UASB variando as condições operacionais por um período total de 150 dias e encontrou concentração de O&G de 4.300 mg/L na espuma, tendo o esgoto afluente DQO média de 167 mg/L. Ross (2016), ao retirar toda a espuma do reator UASB utilizado no estudo, obteve concentração inicial de O&G da ordem de 35.000 mg/kg. Lima (2016) encontrou em seis coletas de espuma realizadas ao longo de seu trabalho concentração de O&G na faixa de 5.777 a 23.475 mg/L

Dessa forma, a espuma e sua composição vêm sendo estudadas para seu melhor gerenciamento. Como já mencionado, entende-se como um problema operacional e de manutenção da tecnologia, a formação, o acúmulo, a ineficiência de retenção, e o conseqüente extravasamento do material oleoso

junto ao efluente tratado de reatores UASB. Para isso, são necessárias medidas preventivas de remoção e tratamento uma vez que os lipídeos podem causar severa poluição ambiental, levando à formação de óleos em superfícies de água, evitando a difusão de oxigênio do ar atmosférico para a coluna d'água e levando ao comprometimento da vida aquática (MENDES et al., 2010).

3.2.4. Metodologias de remoção e tratamento

De acordo com Souza (2006), a necessidade de remoção mais frequente da camada de espuma é abordada por diversos autores como uma postura de operação e manutenção mais racional. Para isso, é prudente que os reatores disponham de dispositivos que possibilitem tanto a remoção de espuma mais fluida quanto de espuma mais concentrada (CAMARGO, 2016).

Entretanto, a retirada periódica se traduz em mais uma demanda operacional. Dependendo da consistência da espuma formada, as calhas de coleta podem não ser eficazes, podendo a mesma manter-se também aderida às paredes internas do separador (PEREIRA, 2007). Outro ponto a ser considerado é que a espuma removida caracteriza-se como um resíduo orgânico biodegradável, ainda passível de adequado tratamento previamente ao descarte final.

Segundo Camargo (2016), três formas para o gerenciamento da espuma são enfocadas nos trabalhos sobre o assunto: a promoção de mecanismos de agitação nas zonas de formação das camadas; a introdução de dispositivos de sucção de espuma; e o projeto adequado do separador trifásico. Entretanto, no caso de reatores UASB já existentes e em operação, a efetiva aplicação das formas de gerenciamento sugeridas podem demandar importantes adaptações e alterações estruturais e, portanto, não seriam viáveis.

Por isso, alguns trabalhos estudaram mecanismos voltados para o tratamento e a biodegradação de substâncias contidas na espuma, como a gordura, através da adição de enzimas ao efluente ou como uma forma de pré-tratamento deste, tais como Dors (2006); Valladão et al (2010); Cammarota et al. (2012); Duarte (2013); Harris; McCabe (2015). O foco das pesquisas dedicadas ao tratamento de efluentes industriais, principalmente com alto teor

de lipídios, tem se voltado para o aumento da eficiência da digestão anaeróbia por meio da aplicação de enzimas lipásicas (SANTOS, 2014). Enzimas hidrolisam especificamente óleos e gorduras, o que pode ser de grande interesse para o tratamento desses efluentes (DORS, 2006).

3.3. Lipases

3.3.1. Definição

Enzimas são catalisadores biológicos, de natureza principalmente proteica, tendo como principal papel o controle metabólico, acelerando reações termodinamicamente favorecidas, sendo extremamente versáteis, estereoespecíficas e de elevada importância nos processos biotecnológicos (COELHO et al 2008). O uso de enzimas criou oportunidades para desenvolver uma química industrial mais verde, sustentável e moderna devido a uma especificidade excelente, podendo trazer economia, simplicidade e poupar energia (LI; ZONG, 2010). A alta especificidade das lipases permite controle dos produtos, levando a um aumento dos rendimentos pela não geração de subprodutos tóxicos; condições moderadas de operação, redução do custo em termos de energia e de equipamentos (DORS, 2006).

As lipases (triacilglicerol acilhidrolases, EC 3.1.1.3) são pertencentes a uma família de enzimas cuja função natural é catalisar a hidrólise de ligações éster carboxílicas presentes em triacilgliceróis de cadeia longa, liberando digliceróis, monogliceróis, glicerol e ácidos graxos (DUARTE, 2013; RIGO et al., 2010). Estas são hidrolases das mais promissoras com potencial industrial, sendo usadas na indústria de alimentos, detergentes, química e farmacêutica (LI; ZONG, 2010).

Estas enzimas possuem elevado potencial biotecnológico devido principalmente aos consideráveis níveis de atividade e estabilidade enzimática que apresentam em meio aquoso e não aquoso, possibilitando a catálise de diversas reações, como acidólise, aminólise, alcoólise, esterificação e transesterificação (GUTARRA, 2007). Sua combinação ao tratamento de efluentes pode ser efetiva uma vez que possibilita a digestão de resíduos lipídicos que serão convertidos a dióxido de carbono, água e biomassa,

podendo o processo ser adicionado a qualquer estação de tratamento de águas residuais (LEFEBVRE et al., 1998).

A utilização de enzimas como adicional ao tratamento convencional permite o tratamento específico de compostos recalcitrantes ou tóxicos, tornando-os mais biodegradáveis, o que tem despertado grande interesse em diversos pesquisadores devido à seletividade destes biocatalisadores (CONTESINI et al., 2010; DUARTE, 2013). Além da alta seletividade dos biocatalisadores, a melhoria causada nas reações de glicerólise utilizando diferentes tipos de óleos, também é responsável por tornar o uso das enzimas uma alternativa promissora (GUO; XU, 2005).

3.3.2. Principais fontes de lipases

As lipases são amplamente encontradas na natureza em microrganismos e eucariotos superiores (GUTARRA, 2007). São amplamente distribuídas em plantas, animais e microrganismos (LI; ZONG, 2010). As lipases microbianas apresentam um amplo espectro de aplicações industriais devido à sua maior estabilidade, especificidade ao substrato e menores custos de produção em comparação com outras fontes (CONTESINI et al., 2010).

O amplo destaque recebido pelas lipases microbianas também advém da capacidade de permanecerem ativas sob faixas mais altas de temperaturas, de pH e na presença de solventes orgânicos (MEHTA; BODH; GUPTA, 2017). Por último, outro ponto benéfico é a imensa biodiversidade dos microrganismos, possibilitando a busca por novas lipases que podem ser produzidas por bactérias, fungos e leveduras.

Entre os microrganismos, os fungos são uma das melhores fontes de lipase por geralmente produzirem lipases extracelulares, que podem ser extraídas mais facilmente, o que reduz significativamente o custo e torna esta fonte preferível sobre as bactérias (MEHTA; BODH; GUPTA, 2017). Dentre estes, os fungos filamentosos são reconhecidos como os melhores produtores de lipase e atualmente são as fontes preferidas, produzindo lipases extracelulares de fácil extração (GUPTA, 2016).

A produção da lipase fúngica é influenciada por fatores nutricionais e físico-químicos, como temperatura, pH, nitrogênio e fontes de carbono, e presença de lipídios, sais inorgânicos, taxa de agitação e concentração de oxigênio dissolvido (MEHTA; BODH; GUPTA, 2017). A grande diversidade dessas enzimas, produzidas por diferentes espécies microbianas, permitem o uso das lipases em diversas aplicações.

Nos trabalhos recentes as espécies mais relatadas pertencem aos gêneros *Rhizopus*, *Rizomucor*, *Geotrichum*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Candida*. Os fungos do gênero *Penicillium* são produtores de algumas lipases comerciais como lipase G "Amano" 50® de *P. Camembertii* e lipase R "Amano" 50® de *P. roqueforti* (produzido por Amano Enzyme Inc., Japão) e lipase LVK® de *P. expansum* (produzido pela Shenzhen Leveking Bioengineering Co., Ltd., China) (LI; ZONG, 2010). Contesini et al. (2010) abordam a utilização de *Aspergillus* na produção de lipases para a indústria de alimentos, de detergentes e têxtil e destacam também a sua utilização no tratamento de efluentes industriais com altos níveis de gordura.

3.3.3. Aplicações da lipase no tratamento de efluentes

A alternativa de utilizar enzimas específicas (lipases) ganhou mais atenção devido a rigorosas regulamentações ambientais uma vez que essas aplicações aumentam a biodegradabilidade do efluente sem trazer demais complicações para seu descarte posterior. As lipases podem ser empregadas na modificação da estrutura química de triacilgliceróis para melhorar suas propriedades físico-químicas (ARAÚJO et al., 2016). Estas catalisam ambas as reações: hidrólise e síntese de éster a partir de glicerol e ácidos graxos de cadeias longas tornando-as um importante grupo de biocatalisadores no setor óleoquímico (PEREIRA, 2004). Quando comparadas aos catalisadores químicos, estes mostram várias desvantagens e produzem uma grande variedade de subprodutos e efluentes tóxicos (CONTESINI et al., 2010).

A aplicação de lipases no tratamento de resíduos, efluentes domésticos e industriais vêm sendo estudada e empregada, uma vez que estas enzimas atuam na hidrólise dos O&G, prevenindo assim os problemas operacionais gerados por estes (CAMMAROTA; FREIRE, 2006; LIMA, 2016). Sua aplicação

no pré – tratamento de efluentes pode ser avaliada pela capacidade de aumentar solubilidade da matéria orgânica e pela sua eficiência na diminuição do tamanho das partículas em solução. Menores partículas possuem uma relação superfície/volume maior e, portanto, uma área de superfície maior para colonização bacteriana e reação (MASSE; KENNEDY; CHOU, 2001). O pré-tratamento para hidrolisar a gordura das águas residuais pode melhorar a degradação biológica, acelerando o processo e reduzindo o tempo de digestão anaeróbia (CAMMAROTA; FREIRE, 2006).

O uso de enzimas pode ser combinado a demais produtos que venham a melhorar a biodegradabilidade do efluente. Uma mistura contendo enzimas, produzidas por fermentação em estado sólido a partir de *P. simplicissimum* ou *P. brevicompactum*, e biossurfactante foi aplicada por Damasceno, Freire e Cammarota (2014) no pré - tratamento de efluente de uma planta de processamento de aves. O uso de surfactante contribui para a emulsão dos lipídios e aumenta a transferência de massa uma vez que o estado bruto dos resíduos graxos pode dificultar a sua degradação (LEFEBVRE et al., 1998). Esta aplicação apresentou maior produção de metano, maiores valores de remoção de DQO e redução da concentração de O&G e no efluente pré-tratado com as lipases.

Outra aplicação em efluentes da indústria avícola foi feita por Pereira (2004) que empregou diferentes preparações de lipases comerciais com o objetivo de selecionar a enzima mais adequada, considerando custo e eficiência. Foram testadas cinco preparações, duas com enzimas de origem animal (pâncreas de porco-LPP e pancreatina-LKM) e três de fonte microbiana (LCR, produzida por *Candida rugosa*; Lipolase, produzida por *Humicola lanuginosa*; e Lipozyme, produzida por *Mucor miehei*). Dentre as lipases testadas, a Lipozyme foi a mais eficiente, porém, possuía custos mais elevados e por isso foram feitos testes posteriores com a lipase microbiana de *Candida rugosa* (LCR) e a preparação de lipase pancreática LKM. As duas lipases apresentaram comportamentos satisfatórios sendo a LKM com o melhor custo benefício. Entretanto, os custos ainda estavam elevados e por fim foi testada outra enzima similar e mais barata, pancreatina da empresa Nuclear, que

apresentou resultados similares, possibilitando uma melhor difusão do emprego de preparados enzimáticos no setor industrial.

A eficiência da hidrólise enzimática e do tratamento anaeróbio a 50°C foram avaliados por Duarte (2013) no pré-tratamento de efluentes da indústria de pescado. A temperatura de 50°C foi utilizada devido a esse tipo de efluente ser gerado a altas temperaturas. Para esse estudo foi utilizado o fungo *Penicillium simplicissimum* na produção das lipases por fermentação em estado sólido que foram utilizadas no estudo. Os resultados obtidos mostraram que a hidrólise termofílica trouxe resultados positivos ao tratamento desse tipo de efluente, reduzindo o tempo de reação quando aplicada em conjunto com um tratamento anaeróbio.

Masse, Kennedy e Chou (2001) testaram três tipos comerciais de enzimas de origens diferentes, animal (pancreática), bacteriana e vegetal na solubilização e redução de tamanho de partículas de gordura em águas residuais de matadouro. Neste trabalho foi concluído que a enzima de origem animal, PL-250, foi o melhor pré-tratamento para hidrolisar partículas de gordura, reduzindo o tamanho em até 60%.

Outra aplicação de lipase pancreática comercial foi feita por Mendes (2004) em águas residuais da indústria de laticínios, ricas em lipídios. A eficiência da enzima no pré-tratamento foi verificado pelos testes comparativos de biodegradabilidade, com as amostras pré-tratadas com enzima apresentando efeito positivo na remoção de DQO, cor e produção de metano. O tratamento enzimático melhorou consideravelmente as condições operacionais anaeróbias e a qualidade do efluente (menor teor de sólidos suspensos e menos turbidez).

Como pode ser visto, diversas aplicações de hidrólise enzimática foram testadas em efluentes da indústria de aves, de pescado, matadouros e laticínios. Entretanto, a utilização de enzimas comerciais para realizar a hidrólise da gordura em efluentes pode ser muito cara, sendo esta técnica dependente da quantidade de enzima necessária para a etapa de hidrólise

(LEAL et al., 2006). Para que a hidrólise enzimática seja mais difundida buscase além da eficiência custos de processo aceitáveis.

Por isso, a produção de enzimas utilizando a fermentação em estado sólido (FES) vem sendo estudada como um importante processo produtivo que possibilita a redução dos custos. Lima (2016) apresentou em seu trabalho a produção de lipases de baixo custo ao utilizar FES com resíduo de torta de babaçu e de lodo seco. Aplicação das lipases em espuma proveniente de reator anaeróbio utilizado no tratamento de esgoto doméstico alcançou bons resultados de degradabilidade. A redução de custos é importante por possibilitar o emprego da hidrólise enzimática aos efluentes domésticos, que apesar de não serem tão ricos em lipídios, apresentam inconvenientes em seu tratamento causados pelo acúmulo destes.

3.3.4. Produção de Lipases por FES

A produção de enzimas utilizadas no tratamento de efluentes deve ser economicamente viável para que não signifique aumento expressivo dos custos. Para isso, pode-se optar por dois sistemas comuns e convencionais de produção: a fermentação submersa (FS) e a fermentação em estado sólido (FES) (DUARTE, 2013). A FES já vinha sendo utilizada há muito tempo, mas foi um pouco ofuscada no Ocidente a partir da produção do antibiótico penicilina através da FS, tornando essa tecnologia um modelo de fermentação, principalmente pela sua importância na segunda guerra mundial (PANDEY, 2003). Posteriormente, as pesquisas com FES ganharam mais notoriedade com alguns marcos como a transformação de esteróides utilizando cultura de fungos e a produção de ração animal com aproveitamento de resíduos agroindustriais.

O Oriente utiliza a FES há muitos anos, sendo o principal produto deles os alimentos orientais fermentados. Nos últimos anos a FES ganhou mais credibilidade nas indústrias biotecnológicas, devido às suas potenciais aplicações na produção de metabólitos secundários biologicamente ativos, além de alimentos para animais, combustíveis, alimentos, produtos químicos industriais e produtos farmacêuticos (THOMAS; LARROCHE; PANDEY, 2013). Esta também é usada para produzir enzimas industrialmente e atrai o interesse

de países como o Brasil por relacionar a possibilidade de empregar os resíduos agroindustriais e gerar produtos com menor custo.

Uma análise econômica realizada por Castilho et al. (2000) comparou o custo da produção de lipase com o fungo *Penicillium restrictum* utilizando FS e FES e o investimento de capital total necessário para a FS foi 78% maior do que o necessário para FES. Ainda, para esse estudo, o processo submerso mostrou-se economicamente inviável, já que o custo do produto unitário era 68% maior do que o preço de venda do produto, enquanto no processo de fermentação em estado sólido o custo do produto foi 47% menor que o preço de venda. Algumas vantagens dos processos de fermentação em estado sólido estão relacionadas ao baixo consumo de energia e à menor geração de efluentes, tornando-os amigáveis ao meio ambiente, pois resolvem também o problema da destinação de alguns resíduos sólidos (PANDEY, 2003).

A FES é atraente do ponto de vista econômico, porque reduz o custo unitário da lipase, sendo menor do que o preço de venda, e oferece uma ferramenta útil para o processamento de resíduos agroindustriais (LI; ZONG, 2010). Grandes volumes de resíduos sólidos são gerados ao longo do ano pelas indústrias agrícolas e de alimentos, atraindo atenção para o bioprocessamento desses resíduos, impulsionando o desenvolvimento de processos eficientes com potencial de criar produtos com o que antes era apenas resíduo a ser descartado (DIAZ et al., 2016).

A utilização dos resíduos pela FES caracteriza o processo como uma tecnologia limpa e essa utilização é possível porque resíduos industriais, agro-relacionados e resíduos orgânicos complexos constituem uma fonte significativa de nutrientes residuais que podem servir de meio de crescimento para os microrganismos produtores de lipases (SALIHU et al., 2012). Alguns dos resíduos utilizados são a torta de babaçu (GUTARRA et al., 2005; CAMMAROTA et al., 2013; SILVA, 2014; LIMA, 2016), farelo de soja (RIGO et al., 2010), rejeito de mamona (GODOY et al., 2011), farelo de trigo (CONTESINI et al., 2009), bagaço de cana (MATEOS DIAZ et al., 2006), dentre outros.

A FES é feita com sólidos em ausência, ou quantidade limitada, de água livre, havendo umidade suficiente no substrato para sustentar o crescimento e o metabolismo do microrganismo (PANDEY, 2003). Diferentes metodologias podem ser empregadas para produção de lipases utilizando a FES, assim como diferentes microrganismos, sendo os fungos filamentosos reportados como os mais adaptáveis devido à sua capacidade de crescer em substratos variáveis e penetrar nos espaços interparticulares dos substratos sólidos (SALIHU et al., 2012). A escolha do microrganismo deve estar ligada à seleção do substrato e do produto visado, onde a identificação da fisiologia dos microrganismos e dos fatores físico-químicos em que estes crescem levam ao desenvolvimento dos parâmetros de processo necessários para o seu ótimo crescimento e atividade (THOMAS; LARROCHE; PANDEY, 2013).

Os materiais que compõem o substrato podem ser celulose, hemicelulose, lignina, amido, pectina e outras fibras e sua composição guiará a escolha do microrganismo mais apropriado para ser cultivado, sendo as vezes necessária a suplementação de nutrientes (SOCCOL et al., 2017). A seleção de um substrato adequado é um aspecto fundamental da FES, uma vez que o material sólido não solúvel atua tanto como suporte físico quanto como fonte de nutrientes (SINGHANIA et al., 2009). Outro ponto importante em relação ao substrato é que este pode estar diretamente relacionado à enzima a ser produzida. Por exemplo, o lipídeo no meio de cultura pode induzir a produção de lipase pelos microrganismos, uma vez que estas podem ser produzidas a partir de resíduos oleosos ou resíduos fibrosos enriquecidos com óleo (SOCCOL et al., 2017).

Outros aspectos importantes para a FES são os parâmetros físico-químicos e bioquímicos, como tamanho da partícula, umidade inicial, pH, pré-tratamento do substrato, temperatura de incubação, agitação, aeração, idade e o tamanho do inóculo (PANDEY, 2003). Há ainda a verificação da necessidade de purificação, de indutores e de extração de produto. Os parâmetros devem ser otimizados com base em experimentos de projeto fatorial e metodologia de superfície de resposta, de modo a identificar os fatores críticos e suas interações (THOMAS; LARROCHE; PANDEY, 2013)

A FES tem atingido bons resultados em suas aplicações por reproduzir processos microbiológicos naturais, como compostagem e ensilagem (SINGHANIA et al., 2009). Seu potencial advém desta fornecer ao microrganismo cultivado um ambiente próximo do ambiente natural onde este habitualmente existe e de onde foi isolado (THOMAS; LARROCHE; PANDEY, 2013). Os microrganismos selecionados para a fermentação em estado sólido normalmente são inoculados em determinadas concentrações de suspensão de esporos, utilizando porções de substratos específicos para cada enzima a ser produzida, umidade, tempo de incubação e temperatura variáveis para cada processo. No caso das lipases fúngicas, sua produção pode ser influenciada por fatores nutricionais e físico-químicos, como temperatura, pH, nitrogênio e fontes de carbono, presença de lipídios, sais inorgânicos, taxa de agitação e concentração de oxigênio dissolvido (MEHTA; BODH; GUPTA, 2017).

O Laboratório de Biotecnologia Microbiana (Labim) vem estudando a produção de lipases por FES empregando fungos filamentosos, tais como *Penicillium simplicissimum* (DUARTE, 2013), *Rhizomucor miehei* (SILVA, 2014) e *P. restrictum* (LEAL et al., 2006). Enquanto *Aspergillus terreus* (LIMA, 2016) vem sendo estudado no Laboratório de Microbiologia Industrial (LaMind), ambos da UFRJ.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

4.1.1. Efluente sintético empregado na alimentação dos reatores

Para alimentação dos reatores foi utilizado efluente sintético com características similares ao esgoto doméstico. Esta utilização ocorreu devido ao esgoto da estação próxima à Universidade possuir características muito distintas do padrão para esgoto doméstico. A concentração de DQO deste apresentava valores abaixo de 200 mg/L e os valores de O&G eram abaixo de 100 mg/L, dificultando o desenvolvimento do estudo.

O efluente sintético utilizado para alimentar os reatores de bancada utilizados nesse trabalho foi preparado de acordo com Torres (1992). Para a concentração de lipídios o valor utilizado foi aumentado de 82 mg/L para 170 mg/L buscando o máximo de concentração de O&G possível sem descaracterizar o efluente como doméstico. Essa alteração foi feita com intuito de facilitar o acúmulo de espuma no topo do reator uma vez que este não recebia materiais particulados e demais resíduos que facilitam a formação da camada suspensa, como ocorre em um reator tratando efluente sanitário real. O efluente sintético foi misturado em béquer de vidro utilizando placas de agitação e foram adicionadas gotas de detergente para emulsificar o óleo presente.

A composição do efluente sintético está apresentada na Tabela 4.1 a seguir.

Tabela 4.1. Composição do efluente sintético utilizado

Composto	Concentração (mg/L)
<i>Carboidratos</i>	
Sacarose	56
Amido	182,4
Celulose	54,4
<i>Proteínas</i>	
Extrato de carne	332,8
<i>Lipídeos</i>	
Óleo de soja *	170
<i>Sais</i>	
NaCl	250
MgCl ₂ .6H ₂ O	7
CaCl ₂ .2H ₂ O	4,5
<i>Tampão</i>	
NaHCO ₃	320

* A concentração de óleo de soja empregada foi maior que a da bibliografia utilizada;

Fonte: Adaptado de TORRES, 1992.

4.1.2. Produtos químicos utilizados

A Tabela 4.2 apresenta os materiais que foram necessários durante o desenvolvimento dessa pesquisa.

Tabela 4.2. Materiais

Produto	Fornecedor
Acetona	Vetec
Ácido Sulfúrico	Vetec
Ágar Batata dextrose	Kasvi
Amido Solúvel	QM
Azeite de Oliva	Gallo
Bicarbonato de Sódio	Isotar
Celulose Microcristalina	QuimiSul
Cloreto de cálcio	Vetec
Cloreto de magnésio	Vetec
Cloreto de sódio	ProQuimios
Detergente	Limpol
Extrato de carne	Merck
Fosfato de potássio dibásico	Vetec / ProQuimios
Fosfato de potássio monobásico	Vetec / ProQuimios
Goma arábica	Vetec
Hexano	Vetec
Hidróxido de sódio	Vetec
Óleo de soja	Sinhá
Sacarose	Vetec
Terra de infusórios	Vetec
Tween 80	Sigma

4.1.3. Equipamentos utilizados

Os equipamentos utilizados estão apresentados na Tabela 4.3 a seguir, junto com seus respectivos fabricantes.

Tabela 4.3. Equipamentos utilizados

Equipamento	Fabricante
Autoclave	Primatec
Balança analítica	Bioscale
Balança de umidade MOC 63u	Shimadzu
Banho de Aquecimento	Fisatom
Banho com agitação	Nova ética
Banho Ultratermostático	Quimis
Bomba de vácuo	Fisatom
Centrífuga	Fanem / Quimis
Estufa com circulação de ar	Fanem
Estufa incubadora	Fisher Scientific
Espectrofotômetro	HACH 2010
Forno de Mufla	Quimis
Microscópio óptico	Zeiss
Placas de agitação	Corning
Placas de aquecimento	Quimis
Potenciômetro	Quimis / Metrohn
Incubadora refrigerada (Shaker)	Thermo Scientific 420
Reator DRB	Hach 200
Titulador automático	Mettler Toledo / Metrohn

4.2. Métodos

4.2.1. Delineamento Experimental

O conjunto de atividades realizado nesse trabalho está apresentado no Diagrama simplificado ilustrado na Figura 4.1. Em ambas as fases do trabalho, o mesmo conjunto de atividades foi conduzido, da seguinte forma:

Fase 1: os reatores do tipo UASB, denominados Reator UASB 1 e Reator UASB 2, foram submetidos às mesmas condições operacionais e sem adição de extrato enzimático aos esgotos afluentes;

Fase 2: embora submetidos às mesmas condições operacionais, somente junto ao ponto de alimentação do Reator UASB 1 foi adicionado o extrato enzimático.

A segunda fase experimental foi dividida em dois períodos, idênticos sob o ponto de vista das condições operacionais submetidas aos reatores, porém, divididos pela interrupção da operação e limpeza completa de ambos os reatores.

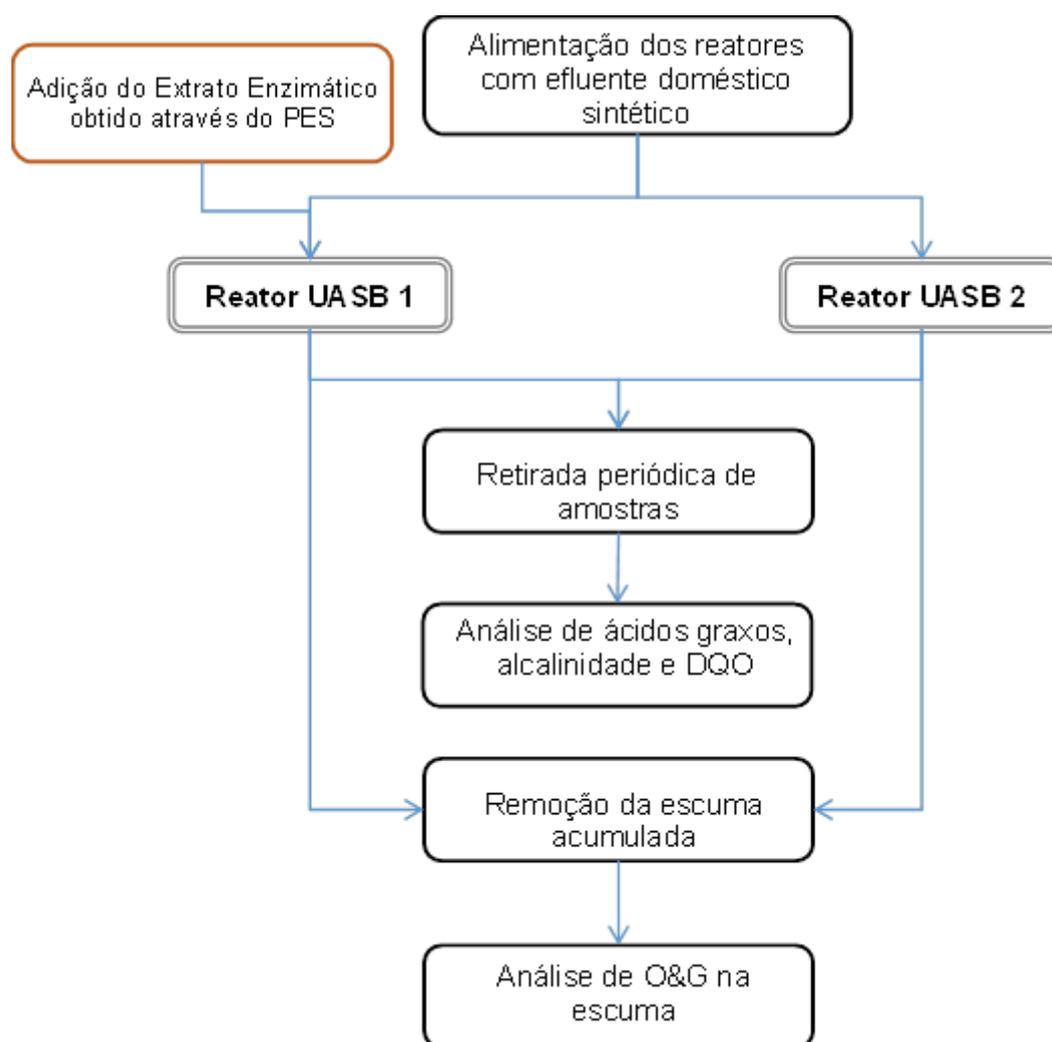


Figura 4.1. Diagrama simplificado com as etapas do trabalho (Fase 2).
A Fase 1 passou pelos mesmos procedimentos, porém sem a adição de enzima no reator 1.

As retiradas de amostras para análises de DQO, AVT e alcalinidade foram realizadas duas vezes por semana.

A remoção da espuma foi realizada ao final da primeira fase e em duas ocasiões durante a segunda fase. Todo o volume retirado foi utilizado para a análise de óleos e graxas.

4.2.2. Fermentação em Estado Sólido (FES)

4.2.2.1. Propagação de esporos para obter a suspensão de esporos

O fungo filamentososo *Aspergillus terreus* utilizado neste trabalho foi selecionado a partir dos resultados de Lima, (2016), que obteve uma atividade lipásica de 18,6 U/g, medida por método titulométrico, e mantida ativa após o período de secagem a 40°C. As cepas isoladas deste fungo foram mantidas e propagadas para a produção de esporos em meio ágar batata (PDA). Além do fungo utilizado, todo o processo de FES foi feito de acordo com a metodologia descrita em Lima (2016).

Para a obtenção de uma solução de esporos para a FES, uma solução estéril constituída de tampão fosfato de sódio (50 mM, pH 7,0) e 0,1% (v/v) de Tween 80 foi utilizada. À esta solução foram adicionados os esporos do fungo, crescido em tubo com meio PDA, utilizado para armazenamento do fungo. Desta solução foi retirado 1mL e aplicado a *erlenmeyers* de 500 mL contendo meio PDA estéril. Após crescimento do fungo a 28°C por 7 dias foi adicionada água destilada e foi feita raspagem com bastão de vidro, formando a solução de esporos que seria utilizada na fermentação. O número de esporos foi quantificado através de contagem em microscópio óptico em câmara de Neubaer.

4.2.2.2. Resíduos Empregados como Meio Basal na FES

O meio basal utilizado na FES foi composto a partir de uma mistura de resíduos com 80 % da massa composta por torta de babaçu e 20% por resíduo seco de uma ETE local da cidade do Rio de Janeiro. Esta mistura reafirma a vantagem da FES de utilizar resíduos agroindustriais e também utiliza o resíduo de onde o fungo *Aspergillus terreus* foi isolado.

A torta de babaçu, um resíduo proveniente da prensagem da amêndoa para extração do óleo de babaçu, foi fornecida pela empresa Tocantins Babaçu S.A (TOBASA). A torta foi moída e peneirada em peneiras do tipo Tyler, de

forma a se obter diferentes tamanhos de partículas, sendo empregada somente a fração com tamanho $\leq 1,18$ mm para fermentação. Esta torta apresentava pH 5,4 e sua composição química, após moagem, está apresentada na Tabela 4.4.

Tabela 4.4. Composição química da torta de babaçu

Componente	% (m/m)
Lipídios	16
Proteínas	20
Fibras	50
Cinzas	4
Umidade	10

Fonte: (SILVA, 2014)

O resíduo proveniente do decantador primário da ETE (mistura seca de lodo primário e espuma) foi coletado e submetido a triagem para separação de materiais como sacos plásticos, palitos de pirulitos, dentre outros. Após esta triagem, este foi peneirado em peneiras do tipo Tyler, de forma a se obter somente a fração com tamanho $\leq 1,18$ mm para fermentação. A caracterização do resíduo peneirado está descrita na Tabela 4.5.

Tabela 4.5. Caracterização do resíduo da ETE

Composição	Valor
Umidade (%)	30,2 \pm 2,2
pH	5,2
Proteínas (mg/g)*	46,21 \pm 1,02
Carboidratos solúveis (mg/g*)	0,03 \pm 0,00
Óleos e Graxas (mg/g)*	207,54 \pm 7,04

Fonte: (LIMA, 2016)

4.2.2.3. Processo Fermentativo e Obtenção do Preparado Enzimático Sólido (PES)

Conforme citado anteriormente o meio basal foi composto por uma mistura de torta de babaçu com 20% (m/m) do resíduo coletado na ETE (após triagem e peneiramento para separação da fração $< 1,18$ mm). A FES foi realizada em béquer de 600 mL contendo 15 g da mistura de resíduos e a solução de esporos, a 30°C, com circulação de ar úmido e 65% de umidade

inicial. Esta umidade foi corrigida com adição da solução de esporos diluída em água estéril para alcançar na FES uma concentração inicial de 10^7 esporos/g.

Para obtenção do PES, a torta fermentada (após 48 horas de fermentação) foi seca em estufa a 40°C por 48 horas, com injeção de ar seco. Após o tempo de secagem, o PES (com umidade inferior a 10%) foi armazenado em temperaturas inferiores a -20°C . O processo de produção do PES e posterior obtenção do extrato enzimático está esquematizado na Figura 4.2 a seguir.

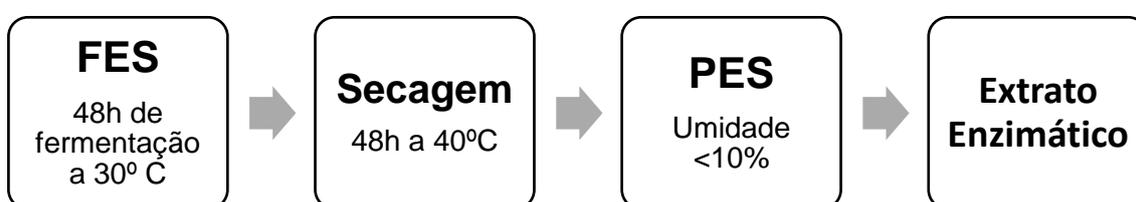


Figura 4.2. Etapas de produção do PES e obtenção do extrato enzimático

4.2.2.4. Extração das Enzimas

A adição das enzimas foi feita a partir da extração do PES uma vez que a adição direta desse material sólido poderia ocasionar problemas na operação dos reatores. Para isso, ao final da fermentação foram adicionados 5 mL de tampão fosfato de sódio (50 mM, pH 7,0) por grama de PES. A extração do preparado enzimático foi realizada em agitador rotatório (*shaker*) a 30°C e 200 rpm por 20 minutos. Posteriormente, a mistura foi prensada manualmente para obtenção do extrato enzimático bruto, ilustrado na Figura 4.3. Para medida do pH das amostras, 1 g do material fermentado foi suspenso em 5 mL de água destilada. A mistura foi vigorosamente agitada e, após 3 minutos, o pH do sobrenadante foi medido em potenciômetro.



Figura 4.3. Etapas para obtenção do extrato enzimático.
 a – Fermentado após 48h; b- secagem; c-PES com tampão fosfato após agitação; d- extrato enzimático

4.2.3. Alimentação dos reatores

Os reatores UASB utilizados nesse trabalho foram dois reatores de bancada idênticos, ilustrados na Figura 4.4, com volume aproximado de 1,4 litros, identificados como Reator UASB 1 e Reator UASB 2. Para compor a manta de lodo ambos receberam lodo proveniente de um reator UASB piloto em operação no Centro Experimental de Saneamento Ambiental da UFRJ (CESA/UFRJ).

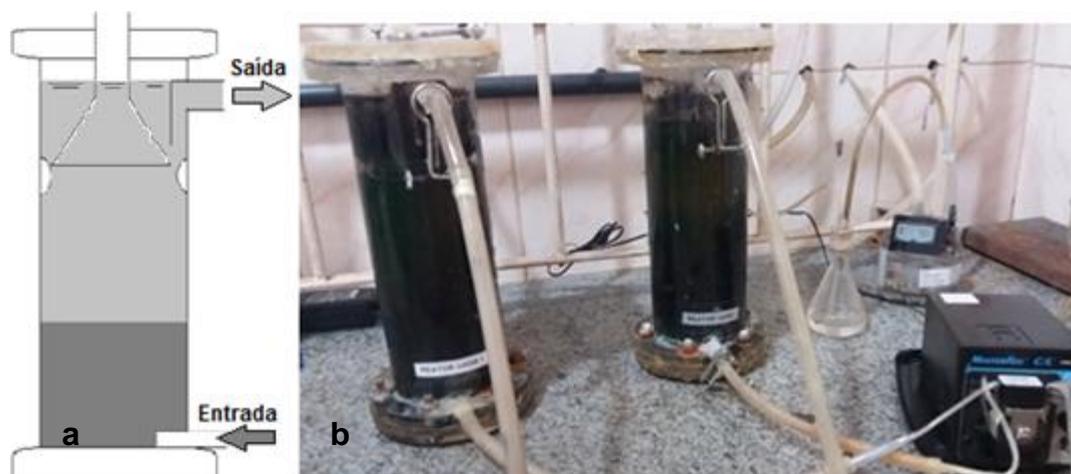


Figura 4.4. Reatores UASB de bancada.
 a- Esquema do interior do reator; b- Foto dos reatores.

A alimentação dos reatores foi realizada diariamente utilizando o efluente doméstico sintético. No início da operação foi observado que o acúmulo de espuma estava muito lento e com intuito de impulsionar esse acúmulo foi realizada uma alimentação em duas etapas, composta por uma etapa principal e uma suplementar. O acúmulo mais lento acredita-se ser devido a condução do processo em bancada com efluente sintético, isento de pequenas partículas sólidas, presentes normalmente no esgoto doméstico, tais

como materiais, plásticos, têxteis, ferrosos, cabelos e produtos de borracha (SOUZA, 2006).

A alimentação principal foi realizada com o efluente sintético considerando uma concentração de 170mg/L de O&G mediante uma vazão de 0,14L/h ou 2,33mL/min durante 22h, conforme apresentado na Tabela 4.6.

Tabela 4.6. Informações dos reatores UASB de bancada

Reatores UASB de bancada		
Volume	1,4	L
TDH	9,7	h
Volume total efluente/ dia	3,48	L/d
Alimentação principal (22h)	0,14	L/h
Volume efluente	3,08	L
Alimentação suplementar (2h)	0,20	L/h
Volume efluente	0,4	L

A alimentação para suplementar o acúmulo de espuma foi feita utilizando o mesmo efluente sintético contendo uma concentração de O&G em torno de 500mg/L mediante uma vazão de 0,2L/h por um período de 2h para ambos os reatores do estudo.

Na primeira fase ambos foram alimentados igualmente e com o mesmo efluente, posteriormente na segunda fase o Reator UASB 1 passou a receber a adição de extrato enzimático junto ao afluente da alimentação principal. Para a determinação do volume de extrato a ser adicionado foi seguido o valor de 0,24U/mL para hidrólise de 1500mg/L de O&G descrito em Lima (2016). Dessa forma, como o efluente de entrada possuía uma concentração de O&G dez vezes menor, a atividade enzimática considerada necessária na alimentação foi de 0,024U/mL ou 24U/L. Com isso, era calculada a massa de PES necessária, considerando a atividade em U/g, para suprir os 24U/L no efluente de alimentação. Para cada PES produzido esse cálculo foi feito durante a operação garantindo a atividade necessária. Ao longo do trabalho foi obtida em média atividade de 10U/g e os volumes de extratos adicionados não passaram de 55mL, sendo um pequeno volume se comparado ao volume de alimentação total afluente.

4.2.4. Métodos analíticos

Os métodos analíticos utilizados para elaboração desse estudo estão apresentados na Tabela 4-9 e em seguida são descritos nos próximos tópicos.

Tabela 4.7. Métodos analíticos utilizados

Parâmetros	Método	Referência
Ácidos graxos voláteis	Titulométrico	DiLallo e Albertson (1961)
Alcalinidade	Potenciométrico	Ripley et al. (1986)
DQO	Colorimétrico de refluxo fechado	APHA (2005)
O&G	Extração em Soxhlet	APHA (2005)
pH	Potenciométrico	-
Quantificação da Atividade lipásica	Titulométrico	Freire et al. (1997)
ST, SST (fixos e voláteis)	Gravimétrico	APHA (2005)
Umidade	Gravimétrico	-

4.2.4.1. Determinação de Ácidos Graxos Voláteis

A determinação dos ácidos voláteis totais (AVT) das amostras foi realizada de acordo com método descrito por DiLallo e Albertson (1961). Este método consiste em reduzir o pH da amostra para determinação da alcalinidade total de 4,3 para 3,3 com H₂SO₄ 0,005M e então levar à fervura durante 3 minutos, para remover o dióxido de carbono da solução. Após fervura, a amostra foi resfriada até temperatura ambiente e então foi realizada a titulação com solução padronizada de NaOH 0,005M até pH 4,0, desprezando-se esse volume. Continuou-se a titulação da amostra (pH=4,0) com solução padronizada de NaOH 0,005 M até pH 7,0 e o volume (V) foi anotado.

A titulação ocorreu em titulador automático modelo 888 Titrande da marca Metrohm, de forma a reduzir erros experimentais. O resultado final foi fornecido pelo software, que já havia sido configurado para realizar todos os cálculos necessários. A equação 1 demonstra os cálculos utilizados:

$$Av = \frac{V \cdot NNaOH \cdot 60000}{V_{amostra}} \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo:

A_v = Ácidos Voláteis Totais em mg/L de ácido acético;

V = Volume de NaOH utilizado na titulação da amostra entre pH 4 e 7 (mL);

N_{NaOH} = Normalidade da solução de NaOH utilizada na titulação;

$V_{amostra}$ = Volume da amostra utilizado na análise (mL).

4.2.4.2. Determinação de Alcalinidade Total

A alcalinidade foi medida por método potenciométrico, segundo metodologia utilizada por Ripley et al. (1986). Para essa análise foram utilizados 50 mL da amostra transferidos para um béquer de 100 mL, e o pH inicial foi medido. A titulação das amostras foi feita através da adição de solução padronizada de H_2SO_4 (0,1N) até pH 5,75, sendo o volume de ácido gasto até este valor anotado e denominado V_1 . Essa alcalinidade é denominada parcial, podendo ser aproximada à alcalinidade a bicarbonato, uma vez que compreende 80% de bicarbonato e 20% de sais de ácidos orgânicos voláteis. A titulação continuou até pH 4,3, e o volume da solução titulante foi anotado e denominado V_2 .

A titulação ocorreu em titulador automático com agitação magnética modelo 888 Titrande da marca Metrohm, de forma a reduzir erros experimentais. O resultado final era fornecido pelo software, que foi configurado para realizar todos os cálculos necessários, bem como as médias. O resultado da alcalinidade total é o somatório das alcalinidades parcial e intermediária ($V_3 = V_1 + V_2$), como segue na equação 2.

$$A_{total} = \frac{V_3 \cdot N_{H_2SO_4} \cdot 50}{V_{amostra}} \quad (\text{Equação 2})$$

Sendo:

A_{total} = Alcalinidade Total em mg $CaCO_3/L$;

V_3 = Somatório dos volumes de H_2SO_4 gastos nas titulações da alcalinidade parcial e intermediária;

$N_{H_2SO_4}$ = Normalidade do ácido sulfúrico diluído utilizado na titulação;

$V_{amostra}$ = Volume da amostra utilizado para análise em mL.

4.2.4.3. Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A DQO das amostras foi medida utilizando o método padrão colorimétrico de refluxo fechado de acordo com APHA (2005). Foi utilizado $K_2Cr_2O_7$ em meio ácido, contendo Ag_2SO_4 como catalisador e $HgSO_4$ para eliminar a interferência de cloretos presentes na amostra. As amostras foram digeridas a $150^\circ C$ durante 2 horas. Após resfriamento, a absorvância foi lida a 600 nm em espectrofotômetro Hach DR 2010.

As análises foram realizadas em triplicata e o branco reacional foi preparado pela adição de água em substituição à amostra. Uma curva padrão foi preparada previamente empregando-se biftalato de potássio como substância padrão, sendo utilizada para converter a absorvância (600nm) das amostras em DQO. Para calcular a eficiência de remoção de DQO dos reatores foi utilizada a equação 3 a seguir:

$$\% \text{DQOremov.} = \frac{DQO_i - DQO_f}{DQO_i} \cdot 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Sendo:

% DQOremov. = Porcentagem de DQO removida

DQO_i = DQO do efluente de entrada do reator

DQO_f = DQO do efluente de saída do reator

4.2.4.4. Determinação dos Óleos e Graxas (O&G)

O teor de O&G na espuma acumulada no topo dos reatores foi determinado por extração em Soxhlet utilizando hexano como solvente, de acordo com metodologia padrão (APHA, 2005). Uma amostra coletada foi acidificada com HCl 1:1 (v/v), para promover a quebra de emulsão e facilitar a separação do óleo, e filtrada à vácuo em um disco de tecido sobre o qual foi colocado um disco de papel Whatman nº 4 e uma camada de mistura de terra de infusórios e água a 5% (m/v).

Os resíduos não filtráveis, contendo as gorduras retidas, foram introduzidos em cartucho de extração previamente descontaminado com

hexano e todo o conjunto foi seco em estufa a 100°C, por 30 minutos. Após o resfriamento em dessecador, foi iniciada a extração com hexano a uma velocidade de 20 ciclos por hora, durante 4 horas. Após esse período, o solvente foi evaporado em rotaevaporador e o balão de destilação contendo as gorduras extraídas foi seco em estufa a 70°C por 20 minutos e depois de esfriar em dessecador o balão foi pesado.

A concentração de O&G presentes na amostra foi calculada de acordo com a Equação 4:

$$\text{O\&G} = \frac{(P2-P1) \cdot 1000}{V} \quad (\text{Equação 4})$$

Sendo:

O&G = concentração de óleos e graxas (mg/L);

P2 = peso do balão + resíduo (mg);

P1 = peso do balão vazio (mg);

V= volume da amostra (mL).

4.2.4.5. Determinação do pH

O pH de todas as amostras foi medido por leitura direta em potenciômetro da marca Quimis modelo Q 400 AS.

4.2.4.6. Quantificação da atividade lipásica

A atividade lipásica das amostras de PES foi determinada por método titulométrico utilizando como substrato óleo de oliva (5% m/v) da marca Gallo emulsionado por 3 min com goma arábica (5% m/v) em tampão fosfato de sódio (100 mM, pH 7,0). O extrato enzimático (1mL) foi adicionado a 19 mL de emulsão e incubado por 15 minutos a 35°C em banho de agitação a 200 rpm. A reação foi interrompida pela adição de uma solução de acetona:etanol (1:1 v/v), que também promove a extração dos ácidos graxos liberados. Os ácidos graxos foram titulados em titulador automático com solução de NaOH 0,04 N até pH final 11,0. Os brancos reacionais foram obtidos adicionando-se 1ml do

extrato enzimático após solução de acetona:etanol, momentos antes da titulação.

Uma unidade de atividade lipásica é definida como a quantidade de enzima que libera 1 μmol de ácido graxo livre por minuto nas condições do ensaio (FREIRE et al., 1997). O cálculo da atividade enzimática está descrito nas Equações 5 e 6, apresentando valores primeiro em mililitros e depois em grama:

$$A_1 = \frac{(V-V_b).M.1000}{t.V_a} \quad (\text{Equação 5})$$

$$A_2 = A_1 \cdot \frac{V_{\text{ext}}}{m_i} \quad (\text{Equação 6})$$

Sendo:

A_1 = Atividade lipásica (U/mL)

A_2 = Atividade lipásica (U/g)

V = Volume de solução de NaOH gasto para titulação da amostra (mL)

V_b = Volume de solução de NaOH gasto para a titulação do branco (mL)

M = Molaridade da solução de NaOH (milimoles/mL)

t = Tempo de reação (min)

V_a = Volume da amostra (mL)

V_{ext} = Volume de extração enzimática (mL)

m_i = Massa seca inicial da torta (g)

4.2.4.7. Determinação dos Sólidos totais e sólidos suspensos (fixos e voláteis)

Para análise do lodo utilizado nos reatores foram realizados sólidos totais, fixos e voláteis. As amostras foram filtradas em filtros de fibra de vidro, com porosidade de 1,2 μm , sob vácuo, e o resíduo retido nos mesmos colocados em cápsulas de porcelana previamente taradas (secas em mufla durante 30 minutos e resfriadas em dessecador) (P1). Os conjuntos (cápsulas e filtros contendo amostra) eram aquecidos em estufa a 105°C até peso

constante (P2). Após esta etapa, eram levados à mufla a 550°C por 30 minutos, resfriados e pesados (P3).

Após os procedimentos supracitados, obtêm-se os resultados P1, P2 e P3. As concentrações dos sólidos totais, fixos e voláteis, foram calculadas a partir das equações 7, 8 e 9, respectivamente (APHA, 2005):

$$ST \text{ ou } SST = \frac{P2 - P1 \cdot 10^6}{Va} \quad (\text{Equação 7})$$

$$STF \text{ ou } SSF = \frac{P3 - P1 \cdot 10^6}{Va} \quad (\text{Equação 8})$$

$$STV \text{ ou } SSV = \frac{P2 - P3 \cdot 10^6}{Va} \quad (\text{Equação 9})$$

Sendo:

ST e SST = sólidos totais e sólidos suspensos totais (mg/L)

165

STF e SSF = sólidos totais fixos e sólidos suspensos fixos (mg/L)

STV e SSV = sólidos totais voláteis e sólidos suspensos voláteis (mg/L)

P1 = peso da cápsula vazia (g)

P2 = peso do conjunto (cápsula+resíduo) após estufa (g)

P3 = peso do conjunto (cápsula+resíduo) após mufla (g)

Va = volume da amostra (mL)

4.2.4.8. Umidade

A umidade em todas as amostras de PES foi determinada em balança determinadora de umidade modelo MOC-63U da marca SHIMADZU.

4.2.4.9. Método estatístico

As médias de DQO de entrada e saída, remoção de DQO e acidez total foram comparadas entre as fases 1 e 2 de cada reator e entre os reatores 1 e 2 empregando o teste estatístico t de Student para amostra dependente e independente de acordo com a natureza da amostra com nível de significância de 5%.

4.2.5. Partida e operação continuada dos reatores UASB de bancada

Conforme mencionado anteriormente os reatores UASB de bancada utilizados nesse trabalho receberam lodo bruto de um reator UASB piloto, de aproximadamente 500L, em operação no CESA/UFRJ, não sendo necessária inoculação do mesmo. As características do lodo utilizado com base nas concentrações de sólidos estão apresentados na Tabela 4.8 a seguir.

Tabela 4.8. Sólidos totais, fixos e voláteis do lodo bruto do UASB

Lodo UASB					
ST (mg/l)	STF (mg/l)	STV (mg/l)	SST (mg/l)	SSF (mg/l)	SSV (mg/l)
74.420	38.530	35.890	52.660	23.320	29.340

A operação dos reatores UASB foi feita no Laboratório de Tecnologia Ambiental na Escola de Química da UFRJ em uma sala climatizada com temperatura constante de 31°C. Os reatores de bancada foram operados no período de janeiro de 2016 a dezembro de 2017, porém o período efetivamente considerado para os resultados de O&G vai de julho de 2016 a dezembro de 2017. Os primeiros meses visaram a estabilização do processo, o aprimoramento e o conhecimento das melhores condições de operação, e este período foi considerados para os resultados de DQO.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No início da operação, na Fase 1, os reatores UASB foram operados com a tampa desparafusada para que fosse possível o acompanhamento visual do acúmulo de espuma no topo. O topo do reator aberto pode ser visto na Figura 5.1. Após constatação quanto a estabilidade do processo em ambos os reatores e que o efluente sintético e os parâmetros operacionais possibilitariam o acúmulo da espuma os mesmos foram fechados, com parafusos e vedação, e operados assim até o final do experimento.



Figura 5.1. Topo do reator UASB na primeira fase de operação

Durante a operação dos reatores, na fase 1, ocorreram alguns problemas decorrentes principalmente da presença de gordura no efluente. No mínimo duas vezes por semana era necessário realizar a limpeza das mangueiras de alimentação devido a entupimentos recorrentes ocasionados pela presença de gordura que aos poucos ia causando acúmulo de material e obstruindo o diâmetro da mangueira.

Em algumas ocasiões, pouco frequentes, ocorreram pequenos transbordamentos e vazamentos, principalmente no Reator UASB 2, ao longo de toda a operação. Esses transbordamentos ocorreram pela possível obstrução da saída do efluente ocasionando aprisionamento do líquido, elevando a pressão interna, forçando as saídas e causando o transbordamento. Antes do final da primeira fase ocorreu um transbordamento no Reator UASB 2 e parte da camada de espuma acumulada foi perdida. Por

essa razão, referente à análise de O&G, somente o resultado advindo do Reator UASB 1 foi considerado para esse período.

Outro problema recorrente no Reator UASB 2 foi a obstrução da saída do biogás causada pelo acúmulo do material gorduroso. Essa obstrução causou perturbações no nível d'água no topo do reator e será mostrada a seguir no tópico com os resultados de O&G.

5.1. Demanda Química de Oxigênio

A DQO das amostras foi feita para a entrada e para a saída de cada reator UASB durante as fases 1 e 2 de operação. A Figura 5.2 apresenta um gráfico com os valores obtidos durante ambos os períodos.

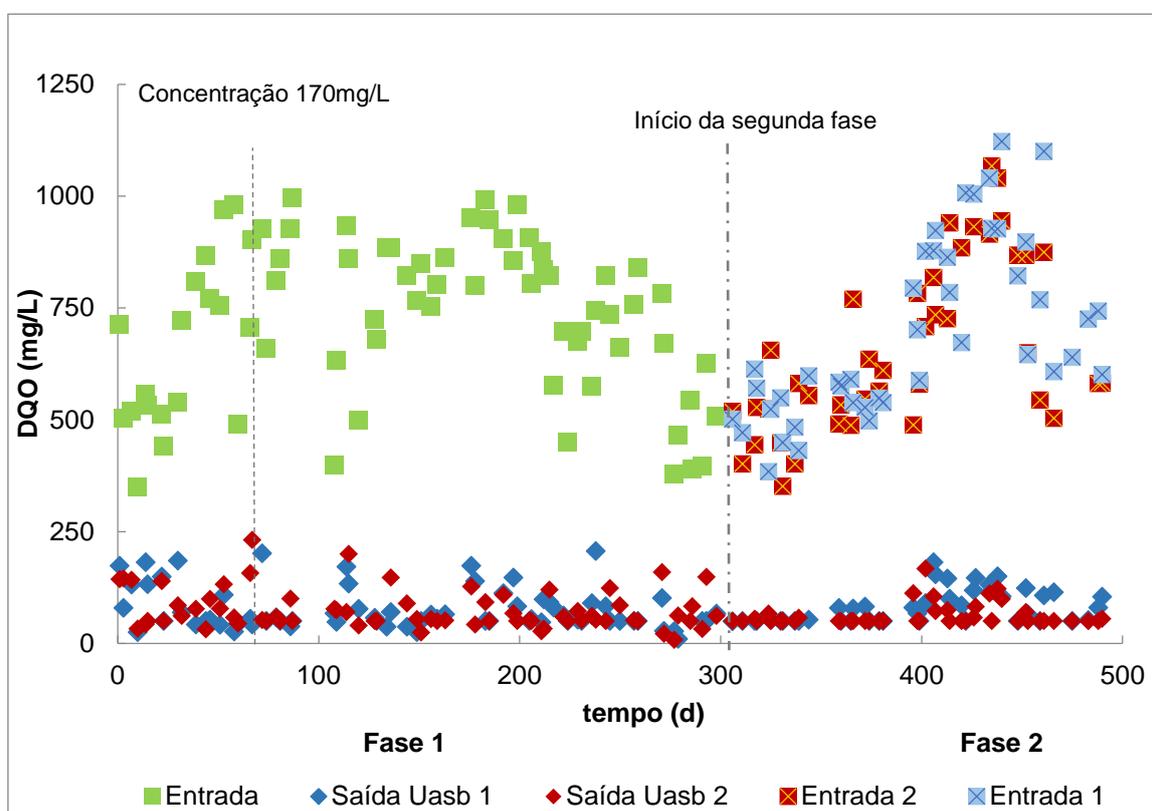


Figura 5.2. DQO de entrada e saída nas duas fases de operação dos reatores UASB 1 e 2.

Como pode ser visto os valores de DQO de entrada variaram um pouco em ambas as fases apesar de ter sido usado um efluente sintético. Essa ocorrência pode ser explicada devido à presença de óleo emulsionado na composição deste efluente, e também devido à celulose utilizada, que possui

baixa solubilidade. Sendo assim, ambos dificultam uma homogeneização completa na tomada de amostra para análise.

No início da operação, na fase1, a concentração de óleo no efluente de entrada foi sendo aumentada progressivamente, indo de 86 para 120, 130 e por fim 170 mg/L de O&G, sendo a última a utilizada em todo o restante do estudo. Esse aumento foi feito para intensificar a formação de espuma, mas as concentrações adotadas não afetaram a DQO de entrada dos reatores, pois o comportamento foi oscilatório, igual durante todo o restante do período, não apresentando uma tendência de crescimento.

Nas saídas dos reatores pode-se notar uma variação bem pequena de valores, apresentando DQO de saída baixa mesmo quando os valores de entrada eram mais altos, apontando assim uma boa remoção de DQO mesmo quando aplicadas cargas mais altas. Essa remoção de DQO elevada acredita-se ser resultado do TDH de 10h utilizado na operação uma vez que TDH mais prolongados tendem a favorecer o processo da digestão anaeróbia em reatores UASB na medida em que as reações bioquímicas envolvidas no processo são consideradas relativamente lentas (SOUZA, 2006).

Como a DQO de saída na fase 1, sem enzimas, já possuía valores baixos, ou seja, a remoção da matéria orgânica já era eficiente não é possível notar no gráfico diferenças nesse parâmetro quando as enzimas passaram a ser aplicadas no Reator 1. As médias dos resultados de DQO obtidos para cada fase estão apresentadas na Tabela 5.1.

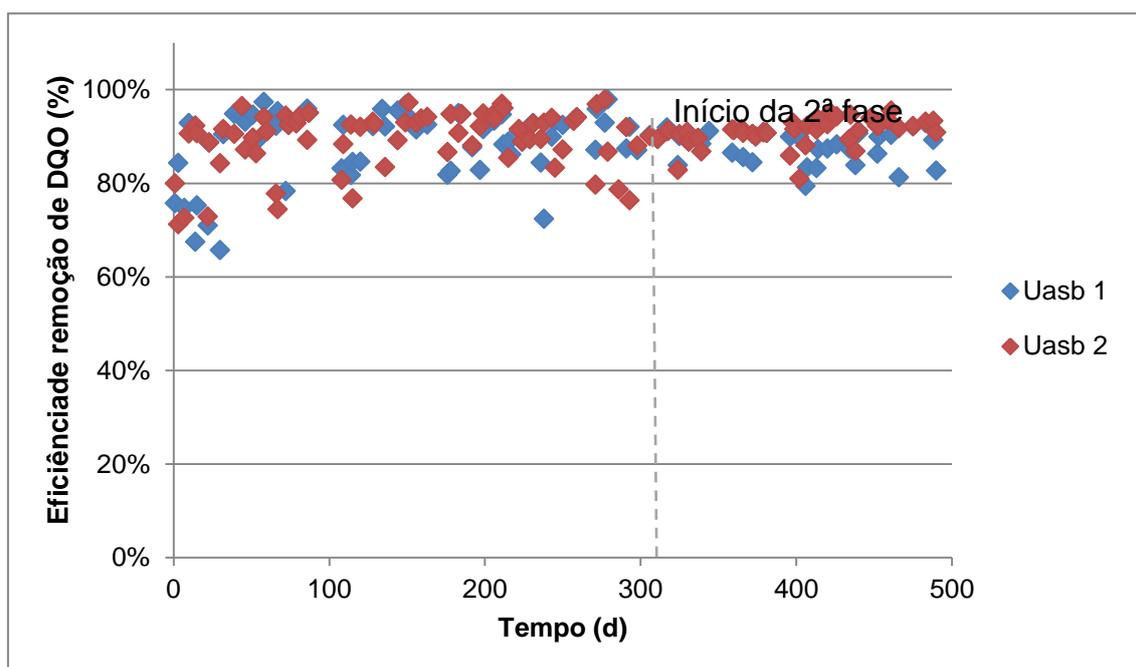
Tabela 5.1. DQO de entrada e saída dos Reatores UASB 1 e 2

	DQO (mg/L)	
	<i>Fase 1 - sem enzimas</i>	<i>Fase 2 - com enzimas no Reator UASB 1</i>
	Média e DP	Média e DP
Entrada Reator UASB 1	724 ± 177 _a	696 ± 196 _a
Saída Reator UASB 1	80 ± 50 _a	80 ± 37 _a
Entrada Reator UASB 2	724 ± 177 _a	660 ± 189 _a
Saída Reator UASB 2	82 ± 47 _a	63 ± 25 _b

*Na primeira fase a Entradas dos reatores é a mesma e por isso os valores estão repetidos. **A análise feita foi o teste de student e as letras iguais significam que as média comparadas em cada linha horizontal não diferem e as letras diferentes diferem, para um $\alpha=0,05$.

Analisando os valores de DQO de Entrada em ambas as fases pode-se dizer que, considerando os DP, os Reatores UASB 1 e 2 foram alimentados com a mesma carga, pois a DQO é praticamente a mesma. Essa igualdade foi confirmada pelo teste estatístico. Dessa forma podemos afirmar que a adição do extrato enzimático não ocasionou um aumento da DQO de entrada, que poderia ter sido causado caso o PES tivesse sido adicionado direto à alimentação sem a etapa de extração.

Em relação à DQO de saída do Reator UASB 1 pode ser dito após comprovação estatística, que esta se mantém a mesma nas duas fases, indicando que a adição da enzima não interferiu na remoção de DQO. No Reator UASB 2, a DQO de saída apresenta valor um pouco menor na segunda fase, e o teste estatístico confirmou diferença de valores de acordo com as médias e os desvios. A remoção de DQO está ilustrada no gráfico da Figura 5.3.



O gráfico com as eficiências dos reatores em ambos os períodos mostra que os reatores apresentaram a eficiência sempre acima de 60%, concentrada na maior parte do tempo entre 80 e 100%. Mesmo no período inicial em que foi realizado um aumento gradativo da concentração de óleo no efluente as concentrações adotadas não afetaram a remoção de DQO ou a eficiência dos

reatores. A eficiência de remoção está também apresentada na Tabela 5.2 que contém as médias dos valores percentuais de remoção em ambas as fases de operação.

Tabela 5.2. Remoção de DQO nos reatores 1 e 2

Remoção DQO (%)		
	<i>Fase 1 - sem enzimas</i>	<i>Fase 2 - com enzimas no Reator UASB 1</i>
	Média e DP	Média e DP
Reator UASB 1	88,5% ± 8,3% _a	88,7% ± 3,5% _a
Reator UASB 2	88,5% ± 6,9% _a	90,9% ± 2,9% _b

*A análise feita foi o teste t e as letras iguais significam que as média comparadas em cada linha horizontal não diferem e as letras diferentes diferem, para um alfa=0,05.

Assim como foi dito para os valores de DQO de saída, para os valores de remoção também não há variação entre as duas fases para o reator 1 avaliando as médias e os DP. Entretanto para o reator 2 há uma melhora sutil de remoção de DQO na segunda fase, confirmada estatisticamente. Comparando as médias de remoção dos Reatores UASB 1 e 2 na segunda fase, onde houve adição de enzimas no Reator UASB 1, observa-se que ocorreu uma remoção um pouco melhor no Reator UASB 2. Os valores de DQO na saída dos reatores na segunda fase estão apresentadas na Figura 5.4 e a remoção de DQO na Figura 5.5.

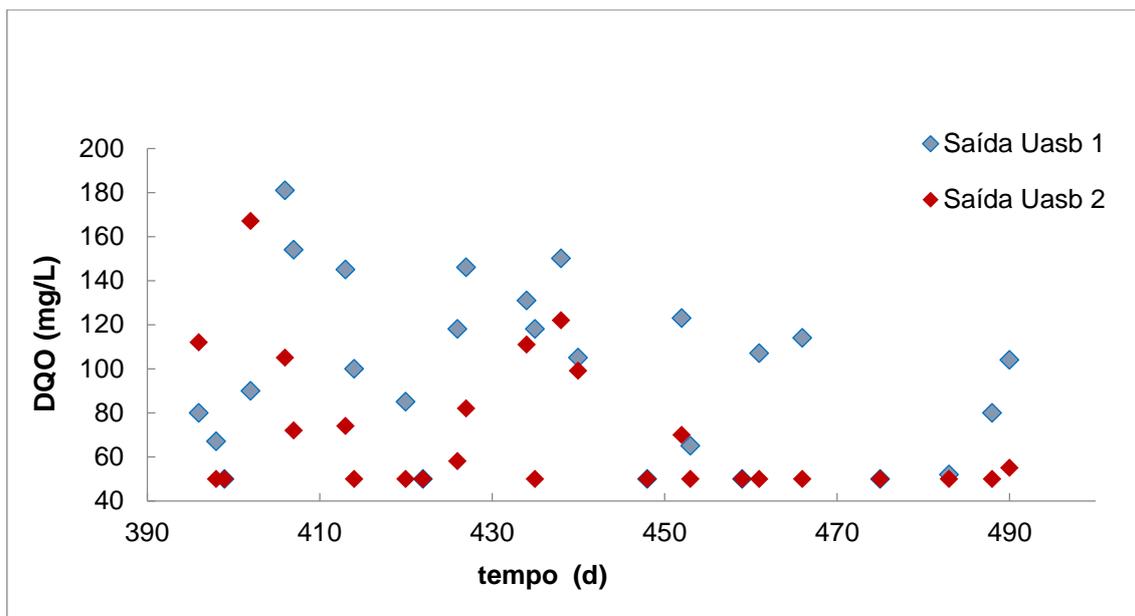


Figura 5.4. DQO de saída no final da segunda fase de operação

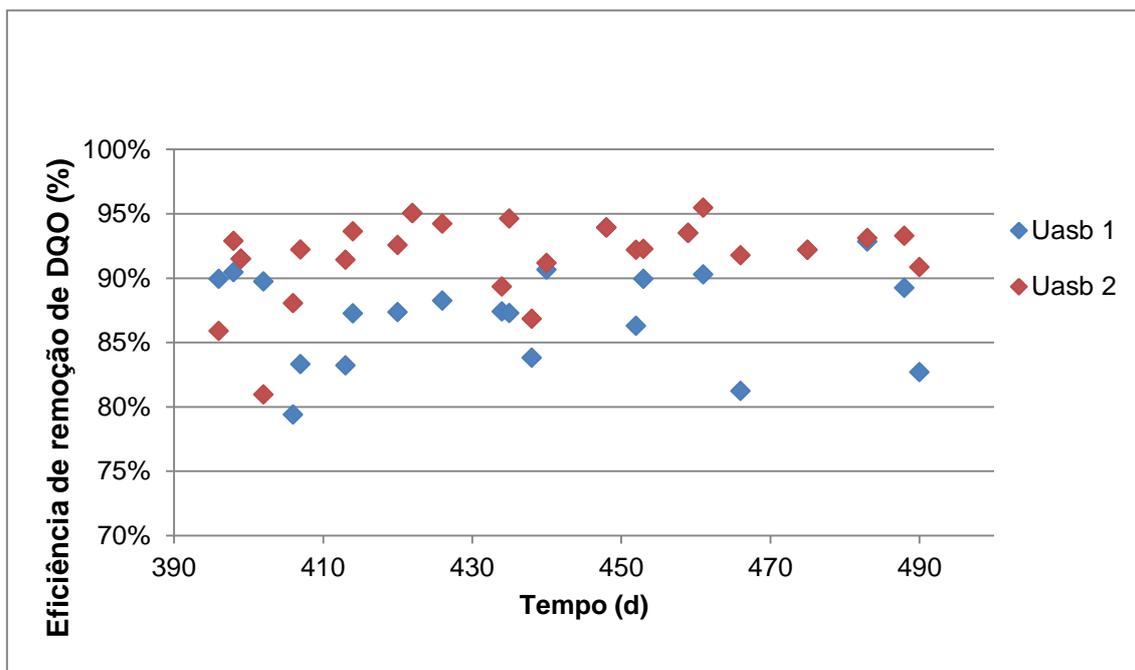


Figura 5.5. Remoção de DQO ao final da segunda fase.

As figuras Figura 5.4 e Figura 5.5 apresentadas anteriormente possibilitam visualizar que o Reator UASB 2 estava mais adaptado ao regime de operação tendo passado todo o período sem nenhuma alteração. Este apresenta valores de DQO de saída um pouco mais baixos e também maior eficiência quando se observa somente o período final.

Portanto, em termos de DQO os reatores apresentaram diferenças muito pequenas quando houve a adição das enzimas, não evidenciando o benefício

dessa adição em termos de remoção de DQO. Entretanto, também não foi evidenciada nenhuma perturbação ocasionada por essa adição, o que também é muito positivo por comprovar que esse processo não teria pontos negativos do ponto de vista de ocasionar quaisquer transtornos ao funcionamento dos reatores.

5.2. AVT e alcalinidade

Para as amostras retiradas dos efluentes de entrada e saída foram feitas as análises de AVT e alcalinidade para que fosse possível acompanhar o funcionamento dos reatores e os possíveis efeitos da adição de enzimas. Os resultados de alcalinidade total estão apresentados no gráfico da Figura 5.6.

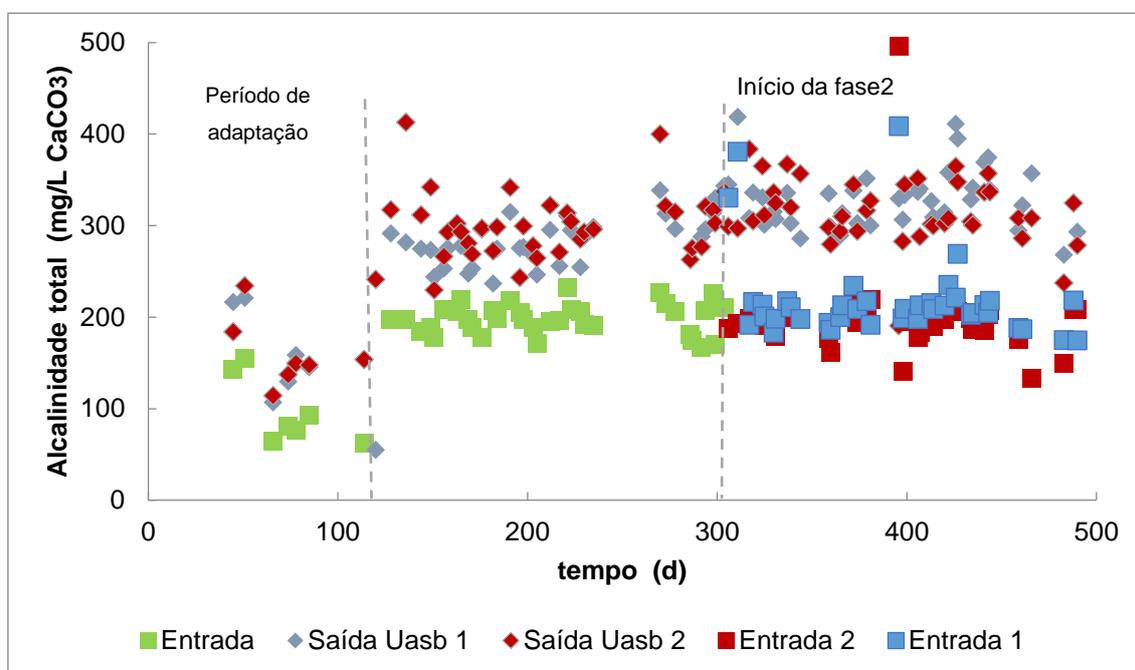


Figura 5.6. Gráfico com os valores de Alcalinidade de entrada e saída

Os primeiros 120 dias de operação, delimitados pela primeira linha tracejada, foram considerados como período de adaptação e a partir daí a alcalinidade de saída fica mais estabilizada. Para as duas fases de operação, separadas pela segunda linha tracejada, a alcalinidade de entrada se manteve em torno de 200 mg/L, ou seja, mesmo na entrada do Reator UASB 1, com extrato enzimático, manteve-se esse valor.

A alcalinidade aumenta nas saídas dos reatores entre uma fase e outra, o que também pode ser observado nas médias da Tabela 5.3. Para o Reator

UASB 1 a alcalinidade na saída vai de 258,4 para 328,7 mg/L e para o Reator UASB 2 vai de 276,7 para 314,0 mg/L. Esse aumento na alcalinidade é bom, pois ajuda a neutralizar os ácidos produzidos e mantém o pH em níveis adequados. Não há diferença relevante entre as saídas dos dois reatores no período com enzimas.

Tabela 5.3. Resultados de AVT, Alcalinidade e relação destes na saída do efluente

	AVT (mg/L)		Alcalinidade (mg/L)		AVT/Alc	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<i>Fase 1- sem enzimas</i>						
Entrada reatores UASB 1 e 2	38,0	10,2	181,5	43,4	0,22	0,11
Saída Reator UASB 1	16,0	4,2	258,4	63,5	0,07	0,04
Saída Reator UASB 2	18,3	6,5	276,7	63,5	0,07	0,03
<i>Fase 2 - com adição de enzimas no Reator UASB 1</i>						
Entrada Reator UASB 1	72,1	21,0	218,8	48,5	0,34	0,12
Saída Reator UASB 1	32,3	12,3	328,7	32,4	0,10	0,03
Entrada Reator UASB 2	52,2	17,6	199,9	51,3	0,27	0,10
Saída Reator UASB 2	23,9	10,3	314,0	35,8	0,08	0,05

Os ácidos voláteis totais de entrada e saída podem ser observados no gráfico da Figura 5.7 e foram discutidos também de acordo com os valores apresentados na Tabela 5.3 anterior.

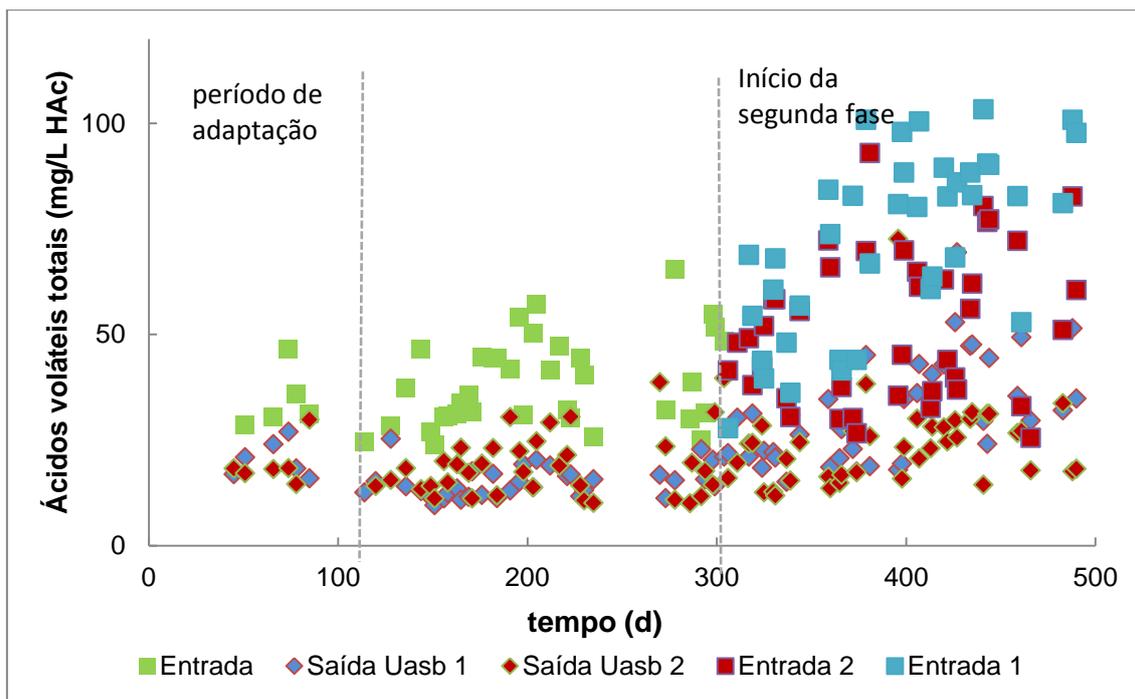


Figura 5.7. Valores de AVT nos reatores UASB 1 e 2

Diferente da alcalinidade, os AVT são menores na saída dos reatores na primeira fase. Dessa forma, é possível calcular uma remoção de 58% no UASB 1 e de 52% no UASB 2. Na segunda fase os AVT aumentam na entrada, principalmente no reator 1 por conta da adição da enzima. Ainda assim, ocorre remoção dos AVT, em média 55% no UASB 1, ou seja, praticamente sem alteração em comparação ao período anterior, e 55% no UASB 2, também muito próximo ao valor anterior.

De maneira geral, pode-se dizer que os AVT da entrada, principalmente para o reator 1, aumentam com o tempo, indo de 38mg/L na primeira fase para 72,1 mg/L na segunda fase. Acredita-se que isto está relacionado à presença da enzima. No reator 2, o aumento de AVT na entrada é bem menos acentuado da fase 1 para a fase 2, de 38,0mg/L para 52,2 mg/L, e considerando os DP, 10,2 e 17,6 mg/L, não há muita diferença nos valores de entrada entre uma fase e outra. Na saída do reator 1 também ocorreu aumento dos AVT com o tempo, indo de 16,0 mg/L na fase 1 para 32,3 mg/L na fase 2, indicando que as enzimas causaram um aumento nos AVT de entrada e saída no reator 1. No UASB 2, sem enzima, o acúmulo é quase imperceptível dentro do período estudado, variando de 18,3 para 23,9 mg/L, com DP de 7,4 e 10,3 mg/l. Todas as diferenças de valores de entradas e saídas nas fases 1 e 2 foram

confirmadas com os testes estatísticos das amostras considerando suas médias e seus desvios.

Para os valores de AVT e alcalinidade nas saídas dos reatores foi feita a relação AVT/Alcalinidade que elucida como está o funcionamento do reator quanto a este parâmetro. Os valores encontrados ao longo das fases estão apresentados no gráfico da Figura 5.8 e suas médias estão na Tabela 5.3 apresentada anteriormente.

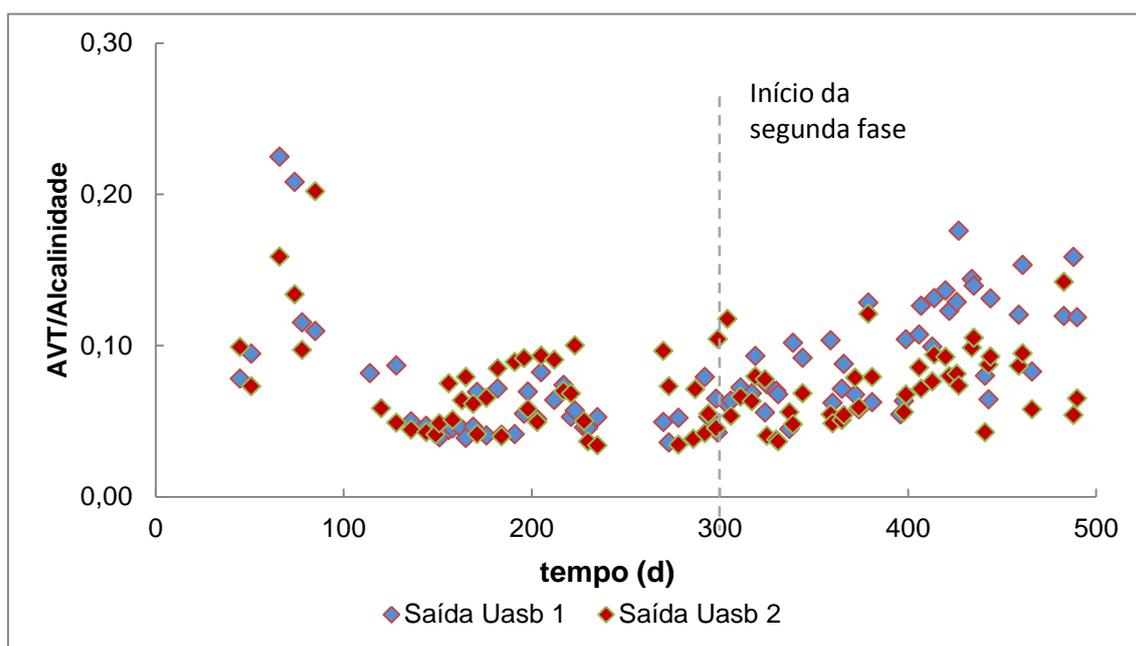


Figura 5.8. Relação AVT/Alcalinidade nas saídas dos reatores UASB.

A razão não atingiu valores críticos em nenhum momento, apresentando valores sempre menores que 0,5, sendo assim, os AVT produzidos foram consumidos. E mesmo aumentando a concentração de AVT na saída do Reator UASB 1, estes foram neutralizados pela alcalinidade, que sempre foi maior que os AVT.

Observando o gráfico, a razão diminuiu com o tempo de operação no período inicial sem enzimas indo de cerca de 0,2 para 0,07 aproximadamente e depois torna a aumentar no período com enzimas, indo de 0,07 para cerca de 0,15. Esse aumento na segunda fase ocorreu mais no Reator UASB 1 que no 2, por conta da maior concentração de AVT no UASB 1, como analisado antes.

5.3. Valores de pH nos efluentes de entrada e saída

Assim como os valores de alcalinidade e ácidos voláteis, o pH das amostras de entrada e saída dos reatores foi medido durante o período de operação. Estes três fatores ambientais estão relacionados e são importantes para o controle e operação dos processos anaeróbios (CHERNICHARO, 2016). O pH é importante no processo principalmente por causa das enzimas e também por afetar os microrganismos produtores de metano. Os valores obtidos para o pH das amostras estão expostos no gráfico da Figura 5.9.

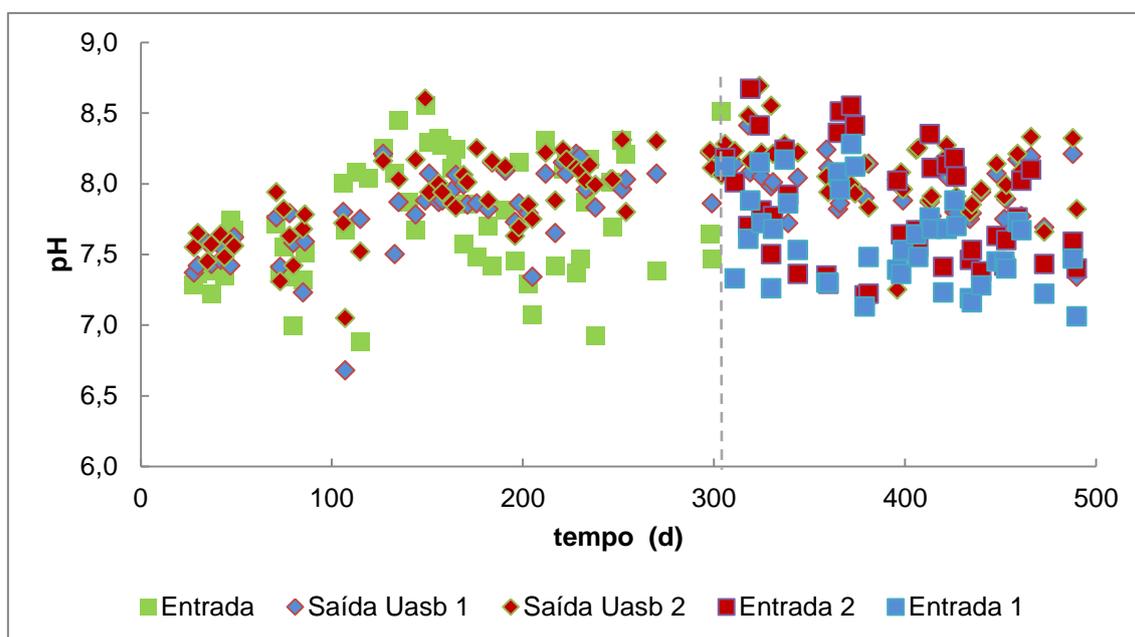


Figura 5.9. Valores de pH de entrada e saída dos reatores UASB.

Como é possível observar os valores de pH para os efluentes de entrada e saída se mantiveram entre 7 e 8,5, havendo maior concentração de valores com pH e em torno de 7,5. Não foram observadas mudanças bruscas de pH durante a operação, evitando assim maiores problemas na estabilidade dos reatores. Os valores das médias de pH de entrada e saída estão listados na Tabela 5.4.

Tabela 5.4. pH das entradas e saídas dos reatores UASB

pH		
	Média	DP
<i>Fase 1- sem enzimas</i>		
Entrada Reatores UASB 1 e 2	7,74	0,43
Saída Reator UASB 1	7,80	0,30
Saída Reator UASB 2	7,89	0,30
<i>Fase 2 - com adição de enzimas no Reator UASB 1</i>		
Entrada Reator UASB 1	7,59	0,32
Saída Reator UASB 1	7,95	0,20
Entrada Reator UASB 2	7,82	0,41
Saída Reator UASB 2	8,07	0,25

Para ambos os períodos os valores de entrada estão em torno de 7 o que é bom para as arqueas metanogênicas que atuam em uma faixa ideal de pH de 6,6 a 7,4 mas também atuam na formação de metano numa faixa de pH mais ampla entre 6,0 e 8,0 (CHERNICHARO, 2016). Ainda de acordo com Chernicharo (2016) as bactérias acidogênicas são menos sensíveis em relação ao pH, apesar de possuírem maior crescimento em uma faixa ótima de pH entre 5,0 e 6,0. Dessa forma o controle do pH é feito principalmente para garantir que não haja a inibição das metanogênicas.

Outro ponto a ser observado é que o valor médio de pH de entrada é 7,59 com DP de 0,32, um pouco acima do pH 7,0 utilizado por Lima (2016) em seus experimentos com as mesmas enzimas. Entretanto, apesar desse valor não estar no pH ideal acredita-se que seja uma pequena diferença e que não tenha atrapalhado a hidrólise enzimática.

5.4. Óleos e graxas

5.4.1. Primeira fase experimental

Para que fosse realizada a análise dos O&G na espuma acumulada no topo dos reatores durante a primeira fase de operação estes foram abertos e a espuma foi removida. Conforme mencionado anteriormente, o Reator UASB 2 sofreu um transbordamento antes da conclusão da primeira fase operacional e

por isso sua espuma foi descartada. Como ambos estavam sendo operados sob as mesmas condições nessa fase, apenas o resultado do Reator UASB 1 é capaz de elucidar sobre o acúmulo da espuma no período. A Figura 5.10 ilustra o acúmulo de espuma no topo do Reator UASB 1 ao final da primeira fase de operação.

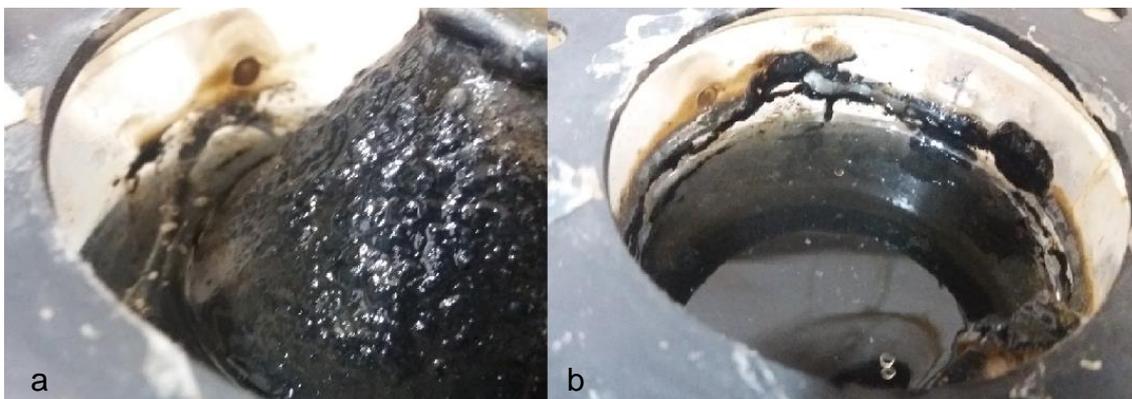


Figura 5.10. Reator UASB 1 após o fim da primeira fase.
a = vista superior com o separador trifásico b= vista superior sem o separador trifásico

A análise do teor de O&G indicou a concentração de 3.256,7 mg/L, decorrente da acumulação de espuma durante 226 dias de alimentação do Reator UASB 1. Esses dias estão compreendidos no período de julho de 2016 a abril de 2017, descontando as ocasiões de alimentação em batelada em função de recessos ou outras dificuldades inerentes ao trabalho experimental.

5.4.2. Segunda fase experimental – 1ª etapa

Como mencionado, a segunda fase experimental é composta por duas etapas, idênticas sob o ponto de vista das condições operacionais submetidas aos reatores, porém divididas pela interrupção da operação de ambos os reatores ao fim da primeira das etapas, em julho de 2017, para a completa limpeza destes. Em ambas as etapas da segunda fase experimental, ao afluente do Reator UASB 1 foi adicionado o extrato enzimático.

As condições de acumulação de espuma no topo de ambos os Reatores UASB 1 e 2 podem ser observadas nas Figura 5.11 e Figura 5.12 respectivamente.



Figura 5.11. Reator UASB 1 ao final da primeira etapa da segunda fase.
a = vista frontal do reator b= vista superior com o separador trifásico c= vista superior sem o separador trifásico

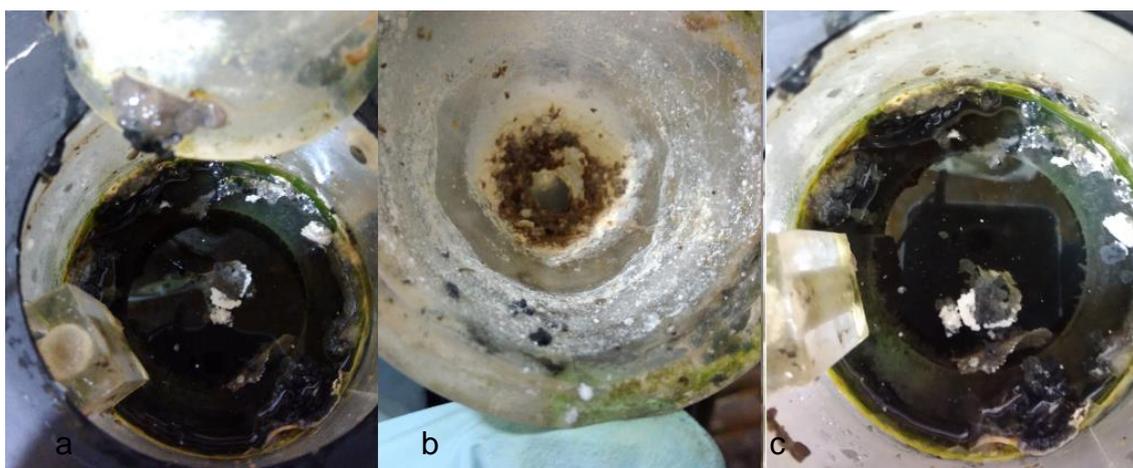


Figura 5.12. Topo do Reator UASB 2 ao final da primeira etapa da segunda fase.
a = vista superior do reator b= separador trifásico c= vista superior sem o separador trifásico

Foi possível observar que o topo do Reator UASB 1 estava um pouco mais limpo e com menor incrustação de material oleoso na parede do reator. Já no Reator UASB 2 é possível observar um maior acúmulo de material gorduroso junto as paredes, com espessura relativamente maior também, além de acúmulo de material no separador trifásico. A Figura 5.13 apresenta os frascos de armazenamento da espuma removida de ambos os reatores.

Já a Figura 5.14 apresenta o mesmo material durante a realização da análise de O&G. Observa-se que os balões utilizados para a análise da espuma acumulada no Reator UASB 2 passaram a apresentar um solvente com coloração mais amarelada, que costuma ser indicativo de maior presença de gordura nas amostras.

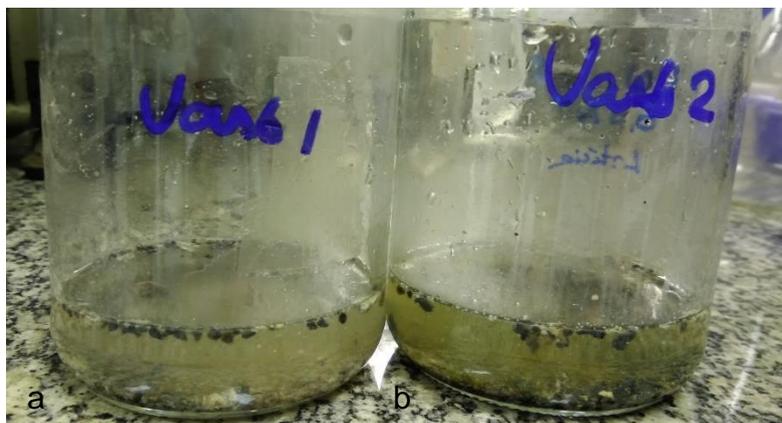


Figura 5.13. Frascos com a espuma retirada dos reatores UASB ao final da primeira etapa da segunda fase.

a = frasco com amostra do reator UASB 1 b= frasco com amostra do reator UASB 1

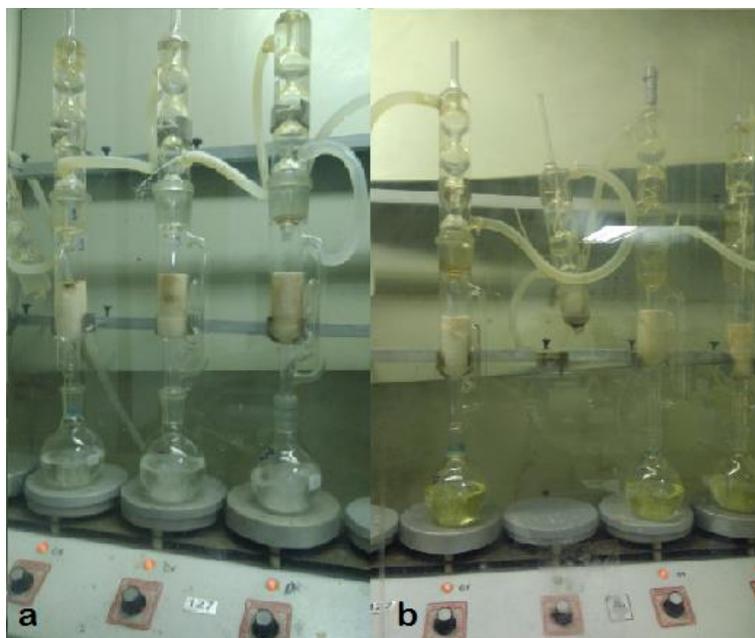


Figura 5.14. Análise de O&G ao final da primeira etapa da segunda fase (fotos com mesmo tempo de análise).

a- Balões com espuma Uasb 1; b- Balões com espuma Uasb 2

Ao final da extração de O&G os balões seguiram para a etapa de recuperação do solvente. A Figura 5.15 ilustra um dos balões utilizados na

análise após a extração de O&G, antes da etapa de secagem em estufa a 70°C.

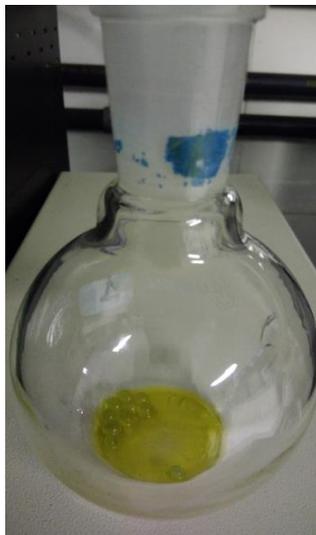


Figura 5.15. Balão utilizado para análise de O&G do Reator UASB 2 após recuperação do solvente.

A concentração de O&G na espuma acumulada no topo dos reatores foram de 1.321,4 mg/L para o Reator UASB 1 e 2.495,9 mg/L para o reator UASB 2. Nesse período foram 69 dias de alimentação descontando dias em que o reator esteve em batelada, de abril a julho de 2017.

5.4.3. Segunda fase experimental – 2ª etapa

Na segunda etapa, finalizada em dezembro de 2017 os topos dos reatores também foram fotografados como anteriormente antes de ser feita a retirada das escumas e as Figura 5.16 e Figura 5.17 apresentam essas fotos.

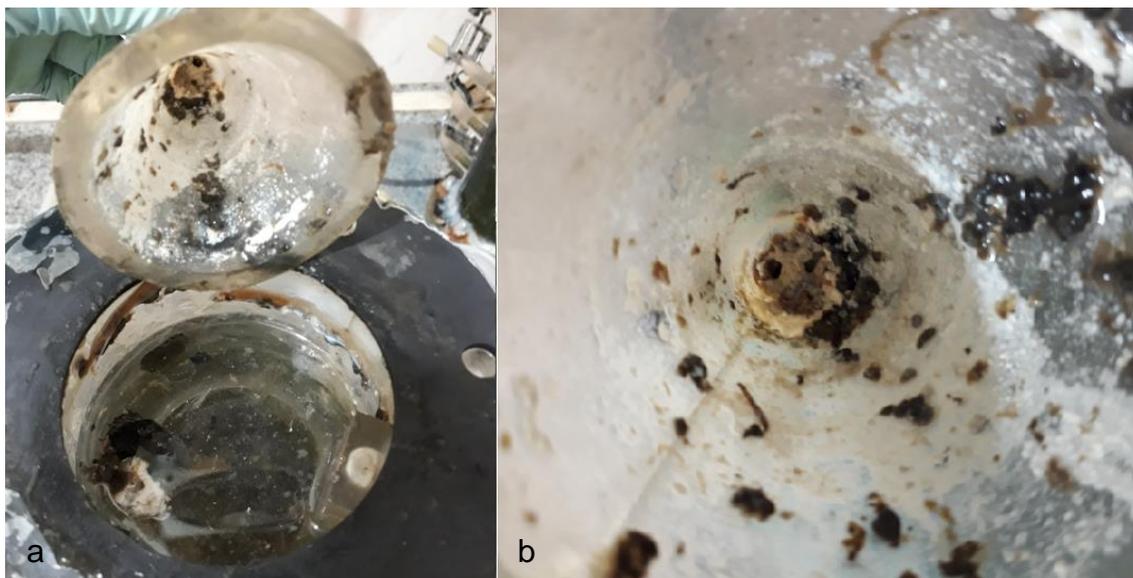


Figura 5.16. Topo do Reator UASB 1 ao final da segunda etapa da segunda fase.
 a- Vista superior com separador trifásico; b- detalhe do separador trifásico



Figura 5.17. Topo do Reator UASB 2 ao final da segunda etapa da segunda fase.
 a- Vista superior com separador trifásico; b- detalhe do separador trifásico

Nas imagens apresentadas anteriormente, em ambos os reatores pode ser observado o acúmulo de material aderido em seu topo. No Reator UASB 1 é possível observar uma fina camada aderida em suas paredes e um pouco de material acumulado no interior do separador trifásico.

Diferentemente do que se esperava, face ao emprego do preparado enzimático somente no Reator UASB 1, não se observou o mesmo acúmulo de material nas paredes do Reator UASB 2. Acredita-se que o menor acúmulo

observado seja devido a uma possível perda de material, ocasionada pela reestabilização do nível de água neste reator em um nível inferior ao alcançado no Reator 1, provavelmente em função do acúmulo de uma densa camada de material no interior do separador trifásico, impedindo a percolação e saída do biogás, causando elevação da pressão interna e alteração do seu respectivo regime hidrostático. Com o nível d'água mais coincidente ao da saída do efluente, uma maior perda de material pode ter sido ocasionada. Entretanto, ainda é possível observar um grande floco de material acumulado e suspenso no meio do reator, além de grande acúmulo no separador trifásico.

Ainda assim, os resultados indicaram, de fato, a obtenção de menor concentração de O&G no Reator UASB 1, submetido à aplicação do preparado enzimático. Enquanto neste reator a concentração alcançada foi de 876,8 mg/L, no Reator UASB 2 obteve-se a concentração de 1526,9 mg/L de O&G. Durante o período de operação dos reatores, compreendido entre agosto e dezembro de 2017, as unidades foram continuamente alimentadas durante 63 dias, intercalados por pulsos de alimentação em batelada, devido a feriados prolongados e também alguns eventos de falta de energia.

As concentrações de O&G alcançadas em cada um dos reatores em todas as etapas e fases experimentais são comparadas por meio do gráfico da Figura 5.18 a seguir.

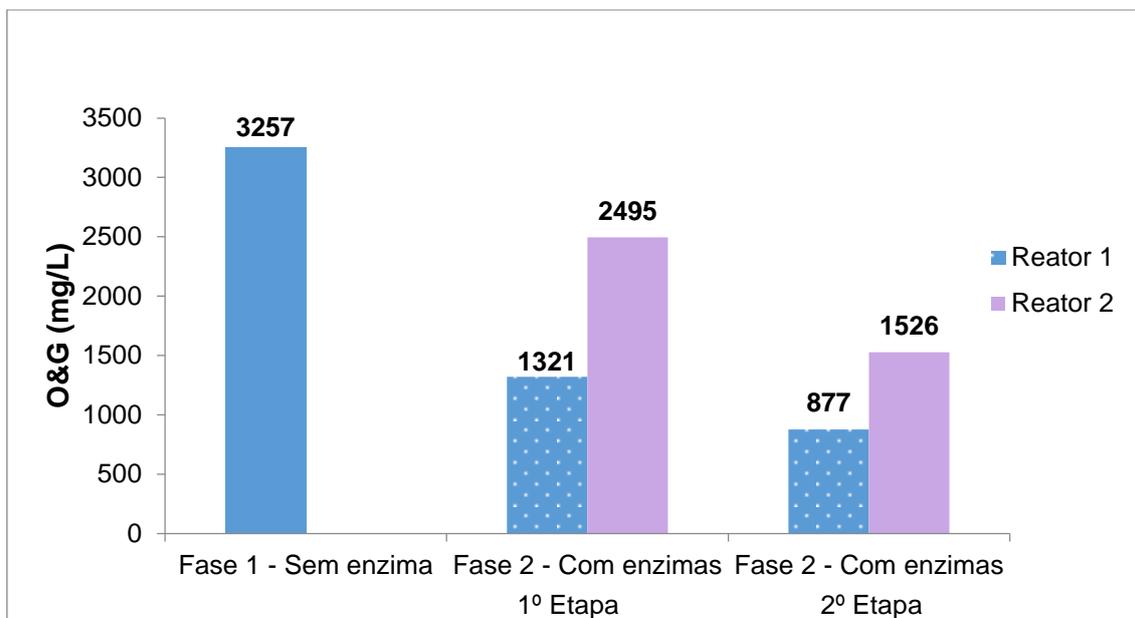


Figura 5.18. Concentrações de O&G nos reatores

A partir destes resultados, considerando a duração de cada uma das fases e etapas experimentais, obteve-se as respectivas taxas de acumulação de espuma. Na primeira fase experimental, ainda sem a adição de preparado enzimático, a taxa de acúmulo correspondente ao Reator UASB 1 foi de 20,2 mg/d. Já na 2ª fase experimental, em ambas as etapas, observou-se maior acúmulo de espuma no Reator UASB 2. Enquanto na 1ª etapa, as taxas de acumulação obtidas para os Reatores UASB 1 e 2 foram de respectivamente 26,8 mg/L e 50,6 mg/L, na 2ª etapa foram de 19,5 mg/L e 33,9 mg/L.

Estes valores induzem ao entendimento de que ao final da primeira etapa da segunda fase experimental, a taxa de acumulação de espuma no Reator UASB 2, não submetido à aplicação do preparado enzimático, foi superior àquela obtida no Reator UASB 1, submetido à aplicação do preparado enzimático, em até 1,9 vezes. Ao final da segunda etapa da segunda fase experimental, o desempenho do Reator UASB 2 levou à acumulação de espuma segundo valor 1,7 vezes maior. Estes resultados demonstram que as lipases adicionadas ao Reator UASB 1 atuaram na redução do teor de O&G, de acordo com a hipótese sugerida no delineamento do presente experimento. O gráfico da Figura 5.19 ilustra os resultados obtidos.

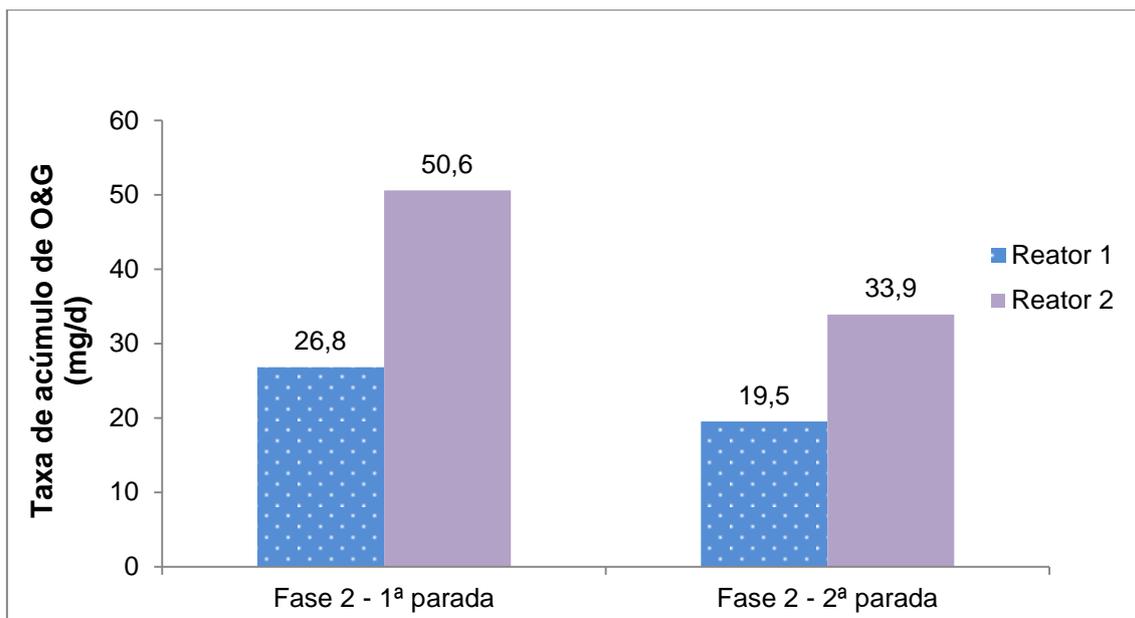


Figura 5.19. Gráfico com a taxa de acúmulo de O&G nos reatores

Complementarmente, quando avaliados os reatores sem a adição do extrato enzimático, observa-se na primeira fase a taxa de acúmulo de 20,2 mg/d para o Reator UASB 1, sem enzima, sendo esta bem menor que os valores encontrados para o Reator UASB 2 sem enzima na fase 2, sendo estes 50,6 e 33,9 mg/d. Acredita-se que essa diferença ocorreu, apesar deste ter sido um período longo de alimentação, devido a duas grandes paradas no final da primeira fase, ficando o reator em batelada entre dezembro e janeiro, período de recesso e entre fevereiro e março, carnaval. De acordo com Ross et al. (2016), a ausência de alimentação de um reator anaeróbio induz à redução do teor de O&G, substrato que, na ausência de novos compostos orgânicos afluentes, ofertaria os nutrientes necessários para a manutenção do metabolismo dos organismos e do processo de digestão anaeróbia.

Os resultados obtidos podem corroborar o entendimento de Ross et al. (2016) comparando as duas etapas da segunda fase, onde na segunda etapa ambas as taxas são menores. Embora tenham sido equivalentes os períodos de alimentação continuada do Reator UASB 2 durante as duas etapas da segunda fase experimental, 69 dias e 64 dias, respectivamente, observa-se que a duração total das mesmas etapas foi de respectivamente 89 dias e 124 dias. Assim, a maior duração da segunda etapa, sujeita a eventos de intermitência da alimentação, pode ter contribuído para a degradação de

compostos orgânicos presentes na espuma e o alcance de menor taxa de acumulação.

6. CONCLUSÕES

A operação inicial dos reatores UASB foi realizada inicialmente com estes abertos de modo a possibilitar a verificação do acúmulo de espuma no topo destes. Foi observado que esse acúmulo ocorre mesmo no caso de não haver materiais particulados e demais resíduos de baixa densidade, podendo esta camada ser formada apenas com a gordura presente no efluente e possíveis sólidos em suspensão no interior do reator.

Com a camada de espuma formada foi possível fazer na primeira fase a análise desta e comprovar elevada concentração de O&G. Foi encontrada para o Reator UASB 1 a concentração de O&G de 3.257 mg/L, evidenciando a necessidade de algum mecanismo que possa reduzir essa concentração e assim obter menor camada de espuma, melhorando a operação dos reatores UASB.

Durante a operação dos reatores UASB de bancada foram observados problemas operacionais como entupimentos das mangueiras de alimentação, obstrução da saída de biogás e transbordamentos, ocasionados principalmente pela presença de gordura no efluente e acúmulo da espuma no topo do reator. Também foram observadas perturbações hidrostáticas que levaram à alteração do nível d'água.

Os reatores UASB apresentaram, durante todo o período de operação, ótimos resultados de remoção de DQO, não sendo possível observar melhorias causadas pela adição das enzimas. Entretanto, é importante destacar que a adição destas não trouxe perturbações nos resultados e nem elevou a DQO de entrada no Reator UASB 1, mostrando que do ponto de vista da DQO não haveria desvantagens causadas pela aplicação do extrato enzimático.

A alcalinidade total na entrada dos reatores se manteve quase constante durante toda a operação e na saída foi apresentado um aumento na segunda fase, principalmente no Reator UASB 1 após a adição das enzimas. Este aumento ajudou na neutralização dos ácidos formados, mantendo o pH do reator em níveis adequados e garantindo bom funcionamento deste.

As análises de AVT mostraram, na segunda fase, aumento na entrada e saída do Reator UASB 1 por conta da adição das enzimas, indicando que estas agiram na maior disponibilização de matéria orgânica. Para todo o período de operação, a relação AVT/alcalinidade não atingiu valores críticos em nenhum momento.

Nos resultados de O&G foram observados valores menores de concentração destes no Reator UASB 1 em ambas as análises realizadas na fase 2 após as remoções de espuma, evidenciando a ação das enzimas lipásicas na gordura presente no efluente de entrada.

Os resultados obtidos com esse estudo mostraram que a adição de extrato enzimático na alimentação de reatores UASB pode trazer benefícios em sua operação e evitar transtornos causados pela presença da gordura. Essa adição pode incrementar a etapa de hidrólise e degradar mais compostos que normalmente não são degradados pelo consórcio de bactérias do interior dos reatores UASB. Dessa forma é possível reduzir o teor de O&G na espuma acumulada no topo dos reatores, possibilitando concentrações de O&G menores neste subproduto.

7. SUGESTÕES

De acordo com o que pôde ser visto neste trabalho, as sugestões para trabalhos futuros seriam:

- Otimização da FES para maior produção de enzimas com o fungo *Aspergillus terreus*, testando outras possíveis misturas dos resíduos, umidade e temperatura, empregando planejamento experimental baseando-se nos trabalhos descritos na literatura para este fungo;
- Comparação empregando uma enzima comercial de baixo custo para avaliar a eficiência da enzima produzida pela FES, comparando, se possível, além dos resultados bioquímicos, os custos envolvidos na aplicação;
- Avaliar a adição das enzimas em uma etapa de pré- hidrólise, comparando diferentes tempos de atuação e possível agitação para melhorar o processo;
- Extrapolar a aplicação das enzimas para reatores piloto e observar o comportamento da espuma quando há outros materiais insolúveis entrando no reator UASB junto ao afluente e verificar a concentração de O&G presente nesta espuma após a aplicação.
- Avaliar a reinjeção da espuma no interior do reator após a aplicação de enzimas nesta.

8. REFERÊNCIAS

ABREU, É. F. DE. **Estudo da diversidade microbiana metanogênica em reatores UASB tratando esgoto sanitário**. Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

ADULKAR, T. V.; RATHOD, V. K. Ultrasonics Sonochemistry Ultrasound assisted enzymatic pre-treatment of high fat content dairy wastewater. **Ultrasonics - Sonochemistry**, v. 21, n. 3, p. 1083–1089, 2014.

APHA (American Public Health Association), American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 18 ed., New York, 2005

ARAÚJO, M. E. M. B. DE et al. Synthesis of structured triacylglycerols enriched in n-3 fatty acids by immobilized microbial lipase. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 1006–1013, 2016.

CAMARGO, B. M. DE. **Comportamento de reator UASB sem separador trifásico no Tratamento de Esgoto Sanitário**. Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade de São Paulo, 2016.

CAMMAROTA, M. C. et al. The effect of enzymatic pre-hydrolysis of dairy wastewater on the granular and immobilized microbial community in anaerobic bioreactors. **Environmental Technology**, v. 34, n. December, p. 417–428, 2013.

CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. M. . A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 2195–2210, 2006.

CAMPOS, J. R. Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no Solo. **Projeto PROSAB**, n. 1, p. 464, 1999.

CASTILHO, L. R. et al. Economic analysis of lipase production by *Penicillium restrictum* in solid-state and submerged fermentations. **Biochemical Engineering Journal**, v. 4, n. 3, p. 239–247, 2000.

CHERNICHARO, C. A. DE L. Pós-tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios. In: **Projeto PROSAB**. 1. ed. p. 1–12, 2001.

CHERNICHARO, C. A. DE L. et al. Alternativas para o controle de emissões odorantes em reatores anaeróbios tratando esgoto doméstico. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 15, n. 3, p. 229–236, 2010.

CHERNICHARO, C. A. DE L. **Reatores anaeróbios**. 2. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2016.

COELHO, M. A. Z.; SALGADO, A. M.; RIBEIRO, B. D. **Tecnologia Enzimática**. Rio de Janeiro: Epub, p.288, 2008.

CONTESINI, F. J. et al. Response surface analysis for the production of an enantioselective lipase from *Aspergillus niger* by solid-state fermentation. **The Journal of Microbiology**, v. 47, n. 5, p. 563–571, 2009.

CONTESINI, F. J. et al. *Aspergillus* sp. lipase: Potential biocatalyst for industrial use. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 67, n. 3–4, p. 163–171, 2010.

DAMASCENO, F. R. C.; FREIRE, D. M. G.; CAMMAROTA, M. C. Assessing a mixture of biosurfactant and enzyme pools in the anaerobic biological treatment of wastewater with a high-fat content. **Environmental Technology**, 2014.

DIAZ, A. B. et al. Modelling of different enzyme productions by solid-state fermentation on several agro-industrial residues. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 22, p. 9555–9566, 2016.

DORS, G. **Hidrólise enzimática e biodigestão de efluentes da indústria de produtos avícolas**. Departamento de Engenharia Química e Engenharia de alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2006.

DUARTE, J. G. **Hidrólise enzimática e digestão anaeróbia termofílica de efluente de indústria de pescado**. Departamento de Engenharia Bioquímica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.

FREIRE, D. M. et al. Lipase production by *Penicillium restrictum* in a bench-scale fermenter : effect of carbon and nitrogen nutrition, agitation, and aeration. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 63-65, p. 409–421, 1997

GLÓRIA, R. M. **Estudo dos processos de formação, acumulação, emissão e oxidação de sulfeto de hidrogênio em reatores UASB tratando esgotos domésticos**. Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

GODOY, M. G. et al. Adding value to a toxic residue from the biodiesel industry: Production of two distinct pool of lipases from *Penicillium simplicissimum* in castor bean waste. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 8, p. 945–953, 2011.

GUO, Z.; XU, X. New opportunity for enzymatic modification of fats and oils with industrial potentials. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 3, n. 14, p. 2615–2619, 2005.

GUPTA, V. K. New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. *Aspergillus* System Properties and Applications. **Elsevier**, 2016.

GUTARRA, M. L. E. et al. Lipase production by solid-state fermentation: cultivation conditions and operation of tray and packed-bed bioreactors. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 121–124, p. 105–116, 2005.

GUTARRA, M. L. E. **Produção de lipase pelo fungo *Penicillium simplicissimum*: Caracterização do processo fermentativo e do produto e**

desenvolvimento de biorreator para fermentação no estado sólido. Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.

HARRIS, P. W.; MCCABE, B. K. Review of pre-treatments used in anaerobic digestion and their potential application in high-fat cattle slaughterhouse wastewater. **Applied Energy**, v. 155, p. 560–575, 2015.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 6. ed. Rio de Janeiro: ABES, 2011.

LATIF, M. A. et al. Integrated application of upflow anaerobic sludge blanket reactor for the treatment of wastewaters. **Water Research**, v. 45, n. 16, p. 4683–4699, 2011.

LEAL, M. C. M. R. et al. Effect of enzymatic hydrolysis on anaerobic treatment of dairy wastewater. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 5, p. 1173–1178, 2006.

LEFEBVRE, X. et al. Kinetic characterization of saponified domestic lipid residues aerobic biodegradation. **Water Research**, v. 32, n. 10, p. 3031–3038, 1998.

LEITÃO, R. C. et al. The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: A review. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 9, p. 1105–1118, 2006.

LETTINGA, G. et al. Use of Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor concept for biological wastewater especially for anaerobic treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, p. 699–734, 1980.

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

LI, N.; ZONG, M. H. Lipases from the genus *Penicillium*: Production, purification, characterization and applications. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 66, n. 1–2, p. 43–54, 2010.

LIMA, A. C. P. DE. **Isolamento de microrganismos de resíduo de estação de tratamento de esgoto visando à produção de enzimas hidrolíticas e sua aplicação no tratamento anaeróbio**. Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2016.

MASSE, L.; KENNEDY, K. J.; CHOU, S. Testing of alkaline and enzymatic hydrolysis pretreatments for fat particles in slaughterhouse wastewater. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 2, p. 145–155, 2001.

MATEOS DIAZ, J. C. et al. Lipase from the thermotolerant fungus *Rhizopus homothallicus* is more thermostable when produced using solid state fermentation than liquid fermentation procedures. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, n. 5, p. 1042–1050, 2006.

MEHTA, A.; BODH, U.; GUPTA, R. Fungal lipases: A review. **Journal of Biotech Research**, v. 8, n. 1, p. 58–77, 2017.

MELO, H. N. DE S. et al. Estudo estatístico da distribuição do teor de óleos e graxas em esgotos doméstico e efluentes de filtros anaeróbios. **Congresso Internacional de Engenharia Sanitária e Ambiental**, n. Lic, p. 1–8, 2002.

MENDES, A. A. **Avaliação da biodegradabilidade de efluentes com alto teor de lipídeos previamente tratados com enzimas hidrolíticas**. [s.l.] Faculdade de Engenharia Química de Lorena, 2004.

MENDES, A. A. et al. Anaerobic biodegradability of dairy wastewater pretreated with porcine pancreas lipase. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 6, p. 1279–1284, 2010.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, n. 2–3, p. 81–84, 2003.

PEREIRA, E. B. **Tratamento enzimático para remoção de gorduras dos resíduos gerados por indústrias de produtos avícolas**. Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

PEREIRA, J. DE O. **Controle da formação de espuma e remoção de matéria orgânica em reator UASB com duplo estágio de coleta de biogás**. Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

RIGO, E. et al. Lipase production by solid fermentation of soybean meal with different supplements. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 7, p. 1132–1137, 2010.

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

ROSS, B. Z. L. **Escuma de reatores anaeróbios tratando esgotos domésticos em escala real: Produção, caracterização e proposição de parâmetros para seu gerenciamento**. Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, 2015.

ROSS, B. Z. L. et al. **Avaliação da taxa de decaimento do teor de óleos e graxas de espuma proveniente de reatores UASB tratando esgotos domésticos**. Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente. **Anais...**Bento Gonçalves: Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente, 2016.

SALIHU, A. et al. Lipase production: An insight in the utilization of renewable agricultural residues. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 58, p. 36–44, 2012.

SANT'ANNA JR, G. L. **Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2013.

SANTOS, A. V. **Remoção, tratamento e valoração de espuma proveniente de reatores UASB aplicados ao tratamento de esgoto doméstico**. Escola

de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.

SILVA, J. DO N. **Produção de lipase por fermentação em estado sólido utilizando o fungo *Rhizomucor miehei***. Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.

SILVA, A. B. DA. **Avaliação da produção de odor na estação de tratamento de esgoto Paranoá e seus problemas associados**. Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, 2007.

SINGHANIA, R. R. et al. Recent advances in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 44, n. 1, p. 13–18, 2009.

SOCCOL, C. R. et al. Recent developments and innovations in solid state fermentation. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 1, n. 1, p. 52–71, 2017.

SOUZA, C. L. DE. **Estudo quantitativo e qualitativo de espuma acumulada em reatores UASB tratando esgotos domésticos**. Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2006.

SOUZA, C. L. DE. **Estudo das rotas de formação , transporte e consumo dos gases metano e sulfeto de hidrogênio**. Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.

TEIXEIRA, A. R. et al. Influência da alteração da distribuição do tamanho de partículas no desempenho de reator UASB tratando esgoto doméstico. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 2, p. 159–166, 2009.

THOMAS, L.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Current developments in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 81, p. 146–161, 2013.

TORRES, P. **Desempenho de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgoto sanitário sob diferentes condições de operação**. Escola de Engenharia. Universidade de São Carlos, SP. 1992

VALLADÃO, A. B. G.; CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. M. G. Performance of anaerobic reactor for treating poultry slaughterhouse wastewater with high fat content after enzymatic hydrolysis. **Environmental Engineering Science**, p. 1–11, 2010.

VERSIANI, B. M. **Desempenho de um reator UASB submetido a diferentes condições operacionais tratando esgotos sanitários do campus da UFRJ**. Departamento de Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 4. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2014.

_____. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Princípios básicos do tratamento de esgotos.** Belo Horizonte: DESA/UFMG, 1996. 2 v