

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
PROCESSOS E TECNOLOGIAS

GERAÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CO-DIGESTÃO DE
RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

JAYNA PESSUTO SILVA

Caxias do Sul, 2015

JAYNA PESSUTO SILVA

**GERAÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CO-DIGESTÃO DE
RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS**

Dissertação apresentada no Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção do grau de mestre em Engenharia de Processos, orientada por Prof. Dr^a. Aline Dettmer e co-orientada por Prof. Dr. Marcelo Godinho.

Caxias do Sul, 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
UCS - BICE - Processamento Técnico

S586g Silva, Jayna Pessuto, 1984-
Geração de biogás a partir da co-digestão de resíduos agroindustriais /
Jayna Pessuto Silva. – 2015.
103 f. : il. ; 30 cm

Apresenta bibliografia.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de
Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologia, 2015.

Orientadora: Profa. Dra. Aline Dettmer ; Coorientadora: Prof. Dr.
Marcelo Godinho.

1. Biogás. 2. Resíduos. 3. Microbiologia industrial. 4. Agroindústria.
I. Título.

CDU 2.ed.: 662.767.2

Índice para o catálogo sistemático:

1. Biogás	662.767.2
2. Resíduos	628.4
3. Microbiologia industrial	663
4. Agroindústria	631.145

Catalogação na fonte elaborada pela bibliotecária
Roberta da Silva Freitas – CRB 10/1730

Jayna Pessuto Silva

**GERAÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CO-DIGESTÃO DE
RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS**

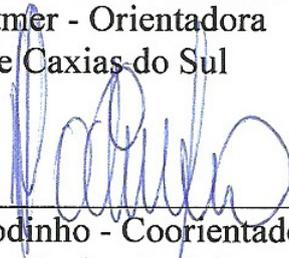
Dissertação apresentada no Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção do grau de mestre em Engenharia de Processos, orientada por Prof. Dr^a. Aline Dettmer e co-orientada por Prof. Dr. Marcelo Godinho.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 30 DE ABRIL DE 2015

Banca Examinadora:



Dra. Aline Dettmer - Orientadora
Universidade de Caxias do Sul



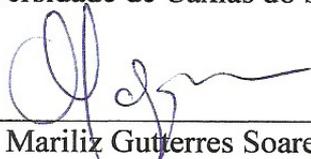
Dr. Marcelo Godinho - Coorientador
Universidade de Caxias do Sul



Dra. Camila Baldasso
Universidade de Caxias do Sul



Dra. Marli Camassola
Universidade de Caxias do Sul



Dra. Mariliz Gutterres Soares
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me concedido coragem e força nos momentos difíceis durante o período de realização do mestrado.

Agradeço à minha mãe, imensa e intensamente, Lorena Pessuto, por ser meu exemplo, pelo amor incondicional, pela compreensão nos nossos almoços rápidos, pela paciência, pelas palavras de incentivo, pelo ombro amigo, pela amizade.

Ao meu marido Marcelo Paganella Moraes, pelo carinho, apoio, compreensão, amor, pelas inúmeras barras de chocolate para escrever/estudar de madrugada, pelas caronas, pela paciência, pela compreensão e por todo o incentivo para realização deste mestrado.

Aos meus familiares e as minhas amigas pela compreensão da minha ausência e pelos momentos descontraídos que passamos juntos.

À Daniele Perdoni, Bianca Scopel, Daniela de Conto pela amizade, companheirismos e ajuda no decorrer deste trabalho.

À Professora Dra. Aline Dettmer, por toda sua dedicação, compreensão, dicas, conversas, orientação e, pelo crescimento que proporcionado ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Dr. Marcelo Godinho pela sua contribuição para realização deste trabalho.

À Karina Berwig e Laís Bavaresco pela ajuda indispensável na realização deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo apoio financeiro cedido na forma de projeto de pesquisa.

À Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa de pesquisa cedida para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1 BIOGÁS.....	16
3.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA	19
3.2.1 Condições Operacionais para a Digestão Anaeróbia.....	22
3.3 MEDIÇÃO DO VOLUME DE BIOGÁS PRODUZIDO.....	26
3.4 RESÍDUOS SÓLIDOS	27
3.4.1 Alternativas de tratamento de resíduos	28
3.4.1.1 Resíduo de esterco suíno	29
3.4.1.2 Resíduos da indústria coureira	33
3.4.1.3 Resíduo de arroz parbolizado.....	36
3.4.1.4 Lodo de Estação de Tratamento de Efluentes	38
3.5 ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS E ATIVIDADES ENZIMÁTICAS NO PROCESSO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA	40
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
4.1 MATERIAIS	46
4.2 MÉTODOS	46
4.2.1 Ensaio de digestão anaeróbia.....	47
4.2.1.1 Avaliação inicial da produção de biogás.....	47
4.2.1.2 Isolamento de microrganismos a partir das combinações com maior geração de biogás	49
4.2.1.3 Geração de biogás pelos microrganismos isolados	49
4.2.1.4 Avaliação da influência da adição de meio de cultivo e variação do pH na geração de biogás com microrganismos isolados.....	50
4.2.1.5 Isolamento de microrganismos em função da fração gerada de gás metano	51
4.2.1.6 Avaliação da fração molar do gás gerado a partir da adição de inóculos – microrganismos isolados no item 4.2.3.5	52
4.2.1.7 Avaliação da influência da adição de meio de cultivo e variação do pH em resíduos de esterco (R)	53
4.2.2 Determinação do volume de gás produzido	54

4.2.3	Determinação da fração molar do gás gerado.....	54
4.2.4	Identificação dos microrganismos isolados.....	55
4.2.5	Caracterização das amostras.....	56
4.2.5.1	Determinação de umidade e sólidos totais	57
4.2.5.2	Nitrogênio Total Kjeldahl	57
4.2.5.3	Quantificação de cromo.....	58
4.2.5.4	Carbono orgânico	58
4.2.6	Cálculo da concentração de carbono orgânico, nitrogênio e cromo das amostras ...	58
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS RESÍDUOS	59
5.1.1	Teor de carbono, nitrogênio, cromo, sólidos totais e umidade nas amostras ...	59
5.2	ENSAIOS DE DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	61
5.2.1	Produção de biogás por diferentes combinações de arroz, resíduo de couro, esterco suíno e lodo de ETE de curtume	61
5.2.1.1	Concentração de carbono orgânico, nitrogênio total das amostras	64
5.2.2	Influência da adição de inóculos contendo os microrganismos isolados a partir das combinações com maior produção de biogás.....	66
5.2.3	Influência da adição do meio de cultivo e variação do pH sobre a geração de biogás pelos microrganismos isolados	69
5.2.4	Avaliação da produção de biogás por diferentes combinações de arroz, resíduo de couro, esterco suíno e lodo de ETE UCS.....	75
5.2.5	Volume e fração molar do gás gerado a partir da adição de inóculos de microrganismos isolados do lodo da ETE UCS e adição de meio de cultivo líquido	79
6	CONCLUSÕES.....	94
	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	96
	REFERÊNCIAS.....	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise dos benefícios ambientais do biogás	16
Tabela 2. Composição do Biogás	17
Tabela 3. Equivalência de 1Nm ³ de biogás em relação a outros combustíveis.....	18
Tabela 4. Produção diária de esterco suíno de acordo com a categoria do animal	27
Tabela 5. Composição nutricional aproximada do arroz parboilizado.....	37
Tabela 6. Identificação das amostras de resíduos e dos inóculos adicionados.....	50
Tabela 7. Variáveis consideradas no planejamento experimental para avaliação da influência do pH e meio de cultivo no processo de DA dos resíduos de arroz e couro	51
Tabela 8. Variáveis no planejamento 2k para esterco (R)	53
Tabela 9. Fatores de resposta em função do composto analisado para o detector TCD	55
Tabela 10. Teor de carbono orgânico, nitrogênio, sólidos, umidade e cromo nos resíduos	59
Tabela 11. Concentrações iniciais e finais de carbono orgânico e nitrogênio total e redução após o ensaio de DA	64
Tabela 12. Concentrações iniciais e finais de cromo nas amostras.....	66
Tabela 13. Identificação dos microrganismos isolados	67
Tabela 14. Volume acumulado de biogás gerado pela bactéria A adicionada ao resíduo de arroz.....	70
Tabela 15. Análise de variância para identificar os fatores significativos para geração de biogás	70
Tabela 16. Volume acumulado de biogás pela bactéria C adicionada ao resíduo de arroz	71
Tabela 17. Análise de Variância para o pH e o meio de cultivo no arroz e adição bactéria C	71
Tabela 18. Volume acumulado de biogás gerado pela bactéria C adicionada ao resíduo de couro	72
Tabela 19. Análise de Variância para o pH e o meio de cultivo no volume de biogás gerado a partir do couro e adição bactéria C.....	72
Tabela 20. Volume de biogás gerado pela bactéria A adicionada ao resíduo de couro	72
Tabela 21. Análise de Variância para o pH e o meio de cultivo no resíduo de couro e adição bactéria A.....	73
Tabela 22. Identificação dos microrganismos isolados a partir do lodo ETE UCS	79
Tabela 23. Teor de carbono, teor de sólidos totais e percentual de redução dos resíduos	79

Tabela 24. Teor de carbono orgânico, teor de sólidos totais e percentual de redução após ensaio de DA	90
Tabela 25. Volume de biogás gerado no esterco (R) em diferentes condições	91
Tabela 26. Análise de Variância para o volume de gás gerado para os fatores significativos	92
Tabela 27. Análise de variância para o teor de metano gerado pelo resíduo esterco suíno	92

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Composição das amostras para avaliar a geração de gás.....	48
Quadro 2. Resíduos utilizados para avaliação da fração molar do gás gerado.....	51
Quadro 3. Composições das amostras para avaliação da fração molar e do volume de gás gerado	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapas da digestão anaeróbia	20
Figura 3. Análises de caracterização dos resíduos utilizados para o processo de digestão anaeróbia.....	47
Figura 4. Análises de caracterização dos resíduos	52
Figura 5. Esquematização do funcionamento da medição do biogás	54
Figura 6. Volume de biogás gerado pelos resíduos de arroz, resíduo de couro, resíduo de esterco suíno e suas combinações.....	62
Figura 7. Avaliação do volume de biogás gerado com adição de inóculos sobre os resíduos de arroz e couro	68
Figura 8. Gráfico de dois fatores para volume de biogás gerado a partir do resíduo de couro com adição da bactéria A.....	73
Figura 9. Fração molar do gás gerado a a partir dos resíduos de arroz e couro	74
Figura 10. Volume acumulado de biogás a partir de lodo da ETE da UCS e outros resíduos .	75
Figura 11. Fração molar do biogás produzido pelas amostras durante o processo de digestão anaeróbia	78
Figura 12. Volume e fração molar do biogás gerado a partir dos resíduos de esterco suíno com adição de inóculos e meio de cultivo líquido	82
Figura 13. Avaliação da influência da adição de inóculo e meio de cultivo no volume e na fração molar do gás gerado a partir do resíduo de couro.....	85
Figura 14. Volume e fração molar do biogás gerado a partir do resíduo de lodo de curtume adicionado ao resíduo de arroz	89
Figura 15. Gráfico de dois fatores para a adição do meio de cultivo no esterco (R) (o autor).	92

RESUMO

O crescimento nas atividades agroindustriais e industriais torna eminente o problema referente à destinação de resíduos gerados nestas atividades. Atualmente, a maior parte dos resíduos gerados são destinados para aterros de resíduos industriais e, no caso de esterco suíno para esterqueiras devido a viabilidade ambiental e econômica. No entanto, a digestão anaeróbia (DA) é uma solução para o tratamento de resíduos, sendo ambiental e economicamente viável, pois através de microrganismos realiza a conversão de subprodutos indesejados em energia renovável na forma de biogás. O presente trabalho teve como objetivo isolar, selecionar e identificar microrganismos capazes de auxiliar na conversão de resíduos agrícolas e industriais em biogás. Os resíduos de arroz, couro, esterco suíno (R) e (A), lodo de ETE de curtume e lodo de ETE UCS foram caracterizados através da determinação de concentração de carbono orgânico, teor de sólidos totais antes e após os ensaios de degradação. A adição de inóculos de microrganismos isolados a partir das amostras que geraram maior volume de biogás foram avaliados, entretanto apresentaram baixa fração molar de metano. Assim, realizou-se novo isolamento de microrganismos provenientes de amostras do lodo de ETE da UCS que durante o processo de DA apresentou fração molar de 76% de metano. Foram realizados isolamentos sucessivos dos microrganismos presentes no lodo, o primeiro isolamento foi após 24h de ensaio e posteriormente foi realizado o isolamento a cada 7 dias totalizando 5 isolamentos. Os microrganismos isolados foram identificados como *Bacillus toyonensys* e *B. thurigiensis* e foram adicionados em amostras que continham resíduo de esterco (A) e (R), resíduo de couro pré-tratado quimicamente e termicamente, resíduo de arroz e resíduo de arroz com lodo de ETE de curtume. Verificou-se que a adição de inóculos aumentou a fração molar de metano dos resíduos de esterco (A) em (55%), esterco (R) de 0,4 para 0,7. A amostra de arroz e lodo de ETE de curtume gerou uma fração molar de hidrogênio de aproximadamente (1,0). Assim, conclui-se que a presença de microrganismos no processo de DA é fundamental para o aumento da fração molar do gás de interesse, visto que estes produzem enzimas capazes de degradar resíduos e transformá-los em energia na forma de biogás. O efetivo processo de DA é caracterizado pela redução dos teores de carbono, o resíduo de arroz com adição de lodo de ETE de curtume e adição de inóculo apresentou maior redução no teor de carbono (77,88%) e no teor de sólidos totais (90,34%).

Palavras-chave: Biogás, digestão anaeróbia, isolamento, inóculos.

ABSTRACT

The growth in agro-industrial and industrial activities becomes imminent problem concerning the disposal of waste generated in these activities. Currently, most of the waste generated is intended for industrial waste landfills and in the case of pig manure to esterqueiras due to environmental and economic viability. However, anaerobic digestion (AD) is a solution for treating waste being environmentally and economically feasible for the treatment of waste, as by microorganisms performs conversion of unwanted by-products in renewable energy. This study aimed to isolate, select and identify microorganisms capable of assisting in the conversion of agricultural and industrial waste into biogas. Rice residues, leather, pig manure (R) and (A), tannery sludge ETE and ETE UCS sludge were characterized by determination of organic carbon, total solids content before and after the degradation tests. The addition of an inoculum of microorganisms isolated from samples of larger volume of biogas generated were evaluated, however showed low molar fraction of methane. Thus, there was re-isolation of microorganisms from WWTP sludge samples during the UCS process showed 76% mole fraction of methane and 73,3mL accumulated volume of biogas. Successive isolation of microorganisms were performed in the mud, the first isolation was after 24 hours test with later isolation every 7 days a total of 5 isolates. The microorganisms were added to samples containing manure residue (A) and (R) pre-treated leather residues chemically and thermally, rice and rice residue with tannery waste sludge WWTP. It has been found that the addition of inoculum increased the mole fraction of methane from manure waste (A) (55%), manure (R) of 0.4 to 0.7. The sample of rice and tannery WWTP sludge generated a mole fraction of hydrogen approximately (1.0). Thus, it is concluded that the presence of microorganisms in the process is essential to the increase of the molar fraction of the gas of interest, since these produce enzymes capable of degrading wastes and convert them into energy in the form of biogas. The actual process of AD is characterized by the reduction of carbon, rice residue with addition of WWTP sludge tanning and adding inoculum greater reduction in carbon content (77.88%) and total solids content (90.34%).

Keywords: biogas, anaerobic digestion, isolation, inoculum.

1 INTRODUÇÃO

Um dos resultados do crescimento demográfico mundial é o aumento da geração de resíduos agroindustriais e urbanos. O tratamento correto de resíduos é uma preocupação mundial, uma vez que o descaso pode gerar inúmeras consequências para o meio ambiente e a sociedade.

A destinação inadequada de resíduos pode ser a causa de contaminação de lençóis freáticos, emissão de gases poluentes na atmosfera, problemas de saúde, entre outros. Resíduos dispostos sem contenção ou tratamento adequados produzem gases de efeito estufa, principalmente a emissão de metano, pois sua geração ocorre de maneira espontânea.

Em relação a produção de resíduos sólidos, em 2013 o Brasil produziu 76 milhões de toneladas de resíduos sólidos, 4,1% a mais que 2012, conforme a Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais (ABRELPE, 2013).

A suinocultura, atividade em exponencial crescimento no Brasil, gera o esterco suíno, este além do odor desagradável, é fonte de microrganismos patogênicos e, se destinado e tratado de forma incorreta pode gerar contaminação de solo, água e poluição atmosférica. Estima-se que um suíno produza em média 3,13 kg de esterco ao dia, assim uma criação de 100 suínos gera mensalmente 9,39 toneladas de esterco.

Ainda sobre a agroindústria, o estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor de arroz no país. Em 2011/2012 foram produzidos 11,6 milhões de toneladas de arroz no Brasil, desse total 451 mil toneladas foram exportadas e, cerca de 51% da quantidade exportada se refere ao arroz parboilizado. O arroz parboilizado além de ser utilizado para alimentação humana pode ser utilizado no cultivo de fungos para o tratamento de plantas, por exemplo, espécies do fungo *Trichoderma* spp. Este fungo é utilizado para o tratamento de solo e crescimento de plantas.

Os resíduos gerados pelas indústrias geram preocupações quanto ao tratamento e disposição, assim órgãos ambientais ao redor do mundo visam a normalização para o tratamento de resíduos e a redução na geração destes. A indústria coureira é um setor que se destaca no Brasil pela movimentação da economia e pelo seu crescimento. Entretanto, a disposição e tratamento adequados do resíduo gerado por esta atividade é uma preocupação pois, estima-se que são geradas 202 mil toneladas de resíduos de rebaixamento por ano, que geralmente são destinados para Aterros de Resíduos Industriais Perigosos (ARIPs).

Neste contexto a digestão anaeróbia pode ser uma alternativa promissora para o tratamento de resíduos industriais e agroindustriais, tais como o esterco suíno, os resíduos de arroz e de couro curtido ao cromo, além de lodos de estações de tratamento de efluentes.

O processo anaeróbio gera como principal produto o biogás, que contém entre 60 e 90% de metano. O biogás pode ser utilizado como combustível de máquinas, caldeiras e aquecimento de sistemas. O seu aproveitamento também possibilita a redução de custos dos processos produtivos ou a despoluição, pois o mesmo não é liberado no ambiente. Portanto, a digestão anaeróbia tem como vantagens a geração de biogás, descontaminação dos resíduos, redução da demanda química e biológica de oxigênio, redução do teor de sólidos voláteis dos resíduos e geração de um resíduo sólido que pode ser utilizado como adubo.

Assim, a utilização do biogás como fonte de energia reflete nos aspectos econômicos e ambientais, além de tratar resíduos agroindustriais, diminuir as demandas sobre os corpos hídricos, solo e áreas cultiváveis que estariam no ciclo como fonte de matéria-prima para sua geração.

A proposta deste trabalho é a obtenção e otimização da produção de biogás a partir de resíduos agroindustriais através da co-digestão anaeróbia.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Isolar, selecionar e identificar microrganismos capazes de auxiliar na conversão de resíduos agrícolas e industriais em biogás.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a geração de biogás a partir de cada resíduo e suas combinações.
- Relacionar os parâmetros como teor de carbono orgânico, teor de nitrogênio Kjeldhal total e teor de sólidos totais com a digestão anaeróbia e consequente geração de biogás.
- Isolar, selecionar, identificar e inocular os microrganismos presentes nas amostras com maior volume acumulado de gás gerado.
- Avaliar o volume e a fração molar do gás gerado após a adição de microrganismos isolados.
- Otimizar condições e meios de cultivos, através de ferramentas estatísticas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo é apresentada a revisão bibliográfica sobre a geração de biogás através do processo de digestão anaeróbia de resíduos. Foram utilizados neste trabalho os resíduos de arroz parboilizado, resíduo de couro, resíduos de esterco suíno e lodos de estação de tratamento de efluentes.

3.1 BIOGÁS

O biogás é produzido pela digestão anaeróbia de diferentes tipos de resíduos, tais como esterco suíno, resíduos sólidos industriais e agrícolas. O metano é produzido por *archeas* metanogênicas, assim, a composição do biogás depende das características do substrato e das condições do processo de digestão anaeróbia. Os microrganismos são agentes catalisadores da reação de formação do biogás (LIMA, 2014).

Segundo Mao *et al.* (2015), o biogás é um meio promissor para atender as necessidades globais de energia, proporcionando vários benefícios ambientais. Além disso, a partir de um ponto de vista sócio econômico, o biogás tem um custo relativamente baixo de matéria-prima e a sua produção reduz significativamente os custos de tratamento de resíduos. A Tabela 1 apresenta os benefícios ambientais com a utilização do biogás.

Tabela 1. Análise dos benefícios ambientais do biogás (adaptada de MAO *et al.*, 2015)

Fonte de Biogás	Utilização e Conteúdo Correspondente
Produção de energia verde	Eletricidade, calor, combustível de veículos
Eliminação de resíduos orgânicos	Resíduos agrícolas, resíduos industriais, resíduos sólidos urbanos, resíduos domésticos e misturas de resíduos orgânicos
Proteção ambiental	Redução de patógenos através de saneamento, redução de insetos (moscas), redução da poluição do ar e da água, conservação da vegetação, substituição de fertilizantes inorgânicos
Agrossistemas ligados ao biogás	Utilização do biogás em sistemas agropecuários, eletricidade, calor
Redução das emissões de gases de efeito estufa	Substitui fontes convencionais de energia

De acordo com Figueiredo (2010), a conversão energética do biogás pode ser uma solução para o grande volume de resíduo gerado no processamento de matérias-primas e nas atividades agropastoris, tratamento de efluentes e outros, visto que, reduz o potencial tóxico das emissões de metano e, ao mesmo tempo pode ser convertido em energia elétrica, reduzindo custos e obtendo ganhos ambientais.

Conforme Thangamani *et al.* (2010), Kipper (2013) e Pierobon (2007), o biogás é um combustível limpo em comparação com outros combustíveis sólidos ou líquidos convencionais porque reduz a poluição atmosférica, uma vez que a fração molar predominante deste gás é o metano e, ainda apresenta vantagens como baixa exigência de energia para o processo de obtenção. O metano quando produzido de forma espontânea é cerca de 24 vezes mais danoso que o dióxido de carbono no que se refere ao efeito estufa.

O biogás é uma mistura de metano e dióxido de carbono, resultante da decomposição anaeróbia de resíduos orgânicos. A conversão da matéria orgânica complexa para metano requer um consórcio de microrganismos, que compreende vários grupos de microrganismos anaeróbios que interagem de forma metabólica (COVINGTON *et al.*, 2003). De acordo com Azevedo (2000), Figueiredo (2010), Christy *et al.* (2014), a composição do biogás bruto consiste em metano (60%), dióxido de carbono (40%), vapor de água e quantidades vestigiais de ácido sulfídrico e amônia, sendo este um gás inodoro e incolor que queima com chama azul claro semelhante ao de gás liquefeito de petróleo (GLP). As propriedades físico-químicas do biogás podem ser restringidas aos dois componentes principais, conforme a Tabela 2.

Tabela 2. Composição do Biogás (adaptada de AZEVEDO, 2000)

Substância	Volume Molar (%)
Metano (CH ₄)	55,0 a 75,0
Dióxido de Carbono (CO ₂)	25,0 a 45,0
Nitrogênio (N ₂)	0,0 a 3,0
Oxigênio (O ₂)	0,0 a 1,0
Sulfeto de Hidrogênio (H ₂ S)	0,0 a 1,0
Amônia (NH ₄)	0,0 a 0,5
Monóxido de Carbono (CO)	0,0 a 0,1

O poder calorífico de um combustível pode ser definido como a quantidade de calor liberada quando uma queima completa é realizada, ou seja, oxidação total por unidade de massa. Na presença de hidrogênio, ocorre a formação de água como produto da combustão, dessa forma o poder calorífico superior é quando a água está sob vapor e poder calorífico inferior quando a água está sob forma líquida (PIEROBON, 2007). O poder calorífico do

biogás está relacionado com o teor de metano, o poder calorífico inferior (PCI) do metano é de 35,59 MJ/m³ e do biogás é cerca de 23,03 MJ/m³, quando possui cerca de 60% de metano (LIMA, 2014). A presença de substâncias não combustíveis no biogás, tais como dióxido de carbono e água, o tornam menos eficiente, pois prejudicam o processo de queima (FIGUEIREDO, 2010).

Segundo Motta (2012), a concentração de gás sulfídrico no biogás é influenciada pelo valor de pH. Valores de pH maiores que 7,0 indicam que a concentração de H₂S estará reduzida, pois o meio básico, o retém no biodigestor.

Sendo assim, quanto maior a concentração de impurezas menor será o poder calorífico do biogás. A Tabela 3 demonstra a equivalência de uma unidade normal metro cúbico (1Nm³) de biogás, esta unidade é referente à Condição Normal de Temperatura e Pressão (CNPT) de 0°C e 1 atm.

Tabela 3. Equivalência de 1Nm³ de biogás em relação a outros combustíveis (adaptada de FIGUEIREDO, 2010)

Combustível	Quantidade equivalente de 1Nm³ de biogás
Carvão vegetal (kg)	0,80
Óleo diesel (L)	0,55
Gasolina amarela (L)	0,61
Carvão mineral (kg)	0,74

Além disso, o biogás tem um preço de venda mais baixo comparado com o do diesel e da gasolina. Estes exemplos ilustram que o biogás pode ser amplamente utilizado como uma fonte de energia renovável (MAO *et al.*, 2015).

Entre as principais aplicações deste gás pode-se citar: produção de calor e/ou vapor, produção de eletricidade com combinação na geração de calor, fonte de energia industrial para calor, vapor e/ou eletricidade e refrigeração, purificado e utilizado como combustível de veículos, produção de produtos químicos, purificado e injetado na rede de gás natural. Pode ser utilizado diretamente com ou sem remoção do dióxido de carbono ou pode ser convertido em energia elétrica com a ajuda de geradores adequados (ABBASI *et al.*, 2012; JEIHANIPOUR *et al.*, 2013).

Entretanto, o biogás pode ser corrosivo, devido à presença de gás sulfídrico na sua composição, que reage com o cobre, o aço, o latão e outros materiais quando em concentrações consideráveis. O amoníaco em concentrações muito baixas torna-se corrosivo

para o cobre, tanto o ácido sulfídrico como a amônia são nocivos e tóxicos quando inalados (PIEROBON, 2007).

Pesquisas para purificação do biogás e, conseqüente aumento do poder calorífico deste gás, estão sendo realizadas, autores como Christy *et al.*, (2014) avaliaram meios de purificação do biogás utilizando carvão ativado para remoção de dióxido de carbono e ácido sulfídrico. Liu *et al.*, (2014) avaliaram a absorção de CO₂ por solução de etanolamina (MEA).

3.2 DIGESTÃO ANAERÓBIA

Com a crise energética da primeira década de 1970 ressaltou-se a necessidade de alternativas viáveis de geração de energia. A partir deste período pesquisas avaliam a utilização de biomassas para o processo de geração renovável de energia (MATA-ALVAREZ *et al.*, 2014).

O tratamento de resíduos é assunto de diversas pesquisas, visando reduzir os impactos ambientais e ser um processo economicamente e ambientalmente sustentável. A digestão anaeróbia (DA) é um processo alternativo de tratamento de resíduos, que ocorre em determinadas condições, transformando os resíduos em fontes de energia renováveis. A tecnologia de digestão anaeróbia é cada vez mais importante para a gestão dos resíduos, uma vez que gera energia renovável a partir de resíduos sólidos industriais e municipais de forma ambientalmente benéfica (SHANMUGAM *et al.*, 2009).

A digestão anaeróbia é um processo livre de oxigênio onde a matéria orgânica é degradada por uma complexa combinação de microrganismos anaeróbios que podem degradar a matéria orgânica em condições específicas. Como benefícios deste processo é possível citar a recuperação de energia na forma de biogás, a estabilização de resíduos e a redução de odor. Este processo é uma alternativa de tratamento para a maior parte dos resíduos perigosos e não perigosos (CHRISTY *et al.* (2014), COVINGTON *et al.* (2003), KAFLE *et al.* (2013), THANGAMANI *et al.* (2010), DHAYALAN *et al.* (2007) e MAO *et al.* (2015)).

Na natureza este processo ocorre em ambientes como pântanos, lagoas, arrozais, lagos, fontes termais, digestores de esgoto, oceanos. A aplicação do processo de tratamento anaeróbio na gestão de resíduos inclui tanques sépticos, digestores de lodo industrial, tratamento de águas residuais, gestão de resíduos perigosos (compostos aromáticos e halogenados), e de gestão de resíduos agrícolas (CHRISTY *et al.*, 2014).

Os substratos mais frequentemente empregados para o processo de conversão de resíduos em energia são os esterco (54%), lodo de esgoto (22%) e resíduos sólidos urbanos

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

(11%). Com o objetivo de melhorar o processo de DA, outros resíduos são adicionados ao processo, os mais utilizados são os resíduos industriais (41%), resíduos agrícolas (23%) e resíduos municipais (20%) (ALVAREZ *et al.*, 2014).

A co-digestão é definida como o tratamento anaeróbio de uma mistura de pelo menos, dois substratos diferentes com o objetivo de aumentar a eficiência do processo de digestão anaeróbia, pois é possível adequar a relação C/N (KAFLE & KIM, 2013).

O processo de digestão anaeróbia tem no mínimo duas reações biológicas, que envolvem, pelo menos, dois grupos diferentes de microrganismos, bactérias formadoras de ácido e bactérias formadoras de metano. A fase ácida é geralmente considerada a conversão de compostos orgânicos complexos em compostos orgânicos mais simples e, finalmente, para os ácidos orgânicos, principalmente ácido acético, por bactérias formadoras de ácido. A etapa de formação de metano é onde ocorre a maior estabilização de resíduos. A estabilidade do processo anaeróbio e a taxa de produção de gás são ambos dependentes da carga orgânica (RAO *et al.*, 2010).

O processo de digestão anaeróbia pode ser dividido em três fases principais: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, conforme Figura 1 (MOLINO *et al.* (2012), ABBASI *et al.* (2012) e COVINGTON *et al.* (2003)).

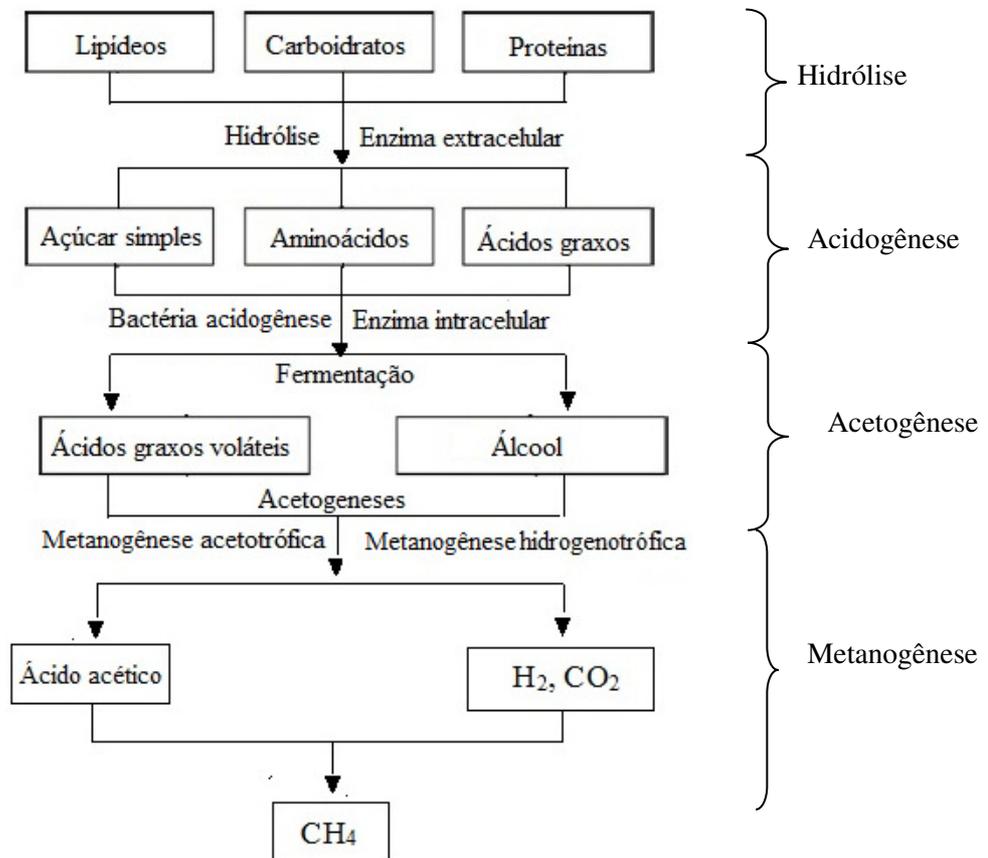


Figura 1. Etapas da digestão anaeróbia (adaptada de ABBASI *et al.*, 2012 e MAO *et al.*, 2015)

No primeiro estágio (hidrólise) grandes macromoléculas de proteínas, gorduras e polímeros de carboidratos (tais como celulose e amido) são hidrolisadas em monômeros solúveis em água (aminoácidos, ácidos graxos de cadeia longa e açúcares). Esta hidrólise é provocada por enzimas extracelulares (hidrolases), essas enzimas como lipases, proteases, celulases são produzidas por bactérias anaeróbias facultativas e estritas (LI *et al.*, (2011) e MOLINO *et al.* (2012)).

Diversos fatores podem afetar a hidrólise como o teor de lipídeos, proteínas e carboidratos, relação superfície/volume, microrganismo/enzima envolvida no processo. A hidrólise é a etapa limitante da velocidade do processo de digestão anaeróbia com elevado teor de sólidos, esta etapa determina a conversão de biomassa em energia renovável (AGUSTINI, 2014).

No segundo estágio as bactérias acetogênicas (ou homoacetogênicas) convertem o produto da fase orgânica simples em ácidos, dióxido de carbono e hidrogênio, ocorrendo a produção de ácido acético, ácido butírico, ácido propiônico e etanol.

Do ponto de vista termodinâmico, a acidogênese é a etapa menos favorecida energeticamente, pois o tempo de geração é baixo e o rendimento é alto (MEESTER *et al.*, 2012). Os produtos formados durante a acetogênese são devidos a diferentes microrganismos. A reação de acetogênese é expressa da seguinte forma:



No terceiro e último estágio, o metano pode ser produzido por duas rotas: a) a partir do acetato: conversão dos grupos metílicos e carboxílicos do acetato para metano e dióxido de carbono por ação de bactérias metanogênicas, sendo a etapa conhecida como metanogênese direta e, b) por oxidação do acetato a dióxido de carbono e a redução deste a metano. Esta última rota ocorre através de bactérias oxidantes e metanogênicas hidrogenotróficas (SASAKI *et al.*, 2011). A produção de metano é maior a partir da redução de dióxido de carbono, porém o limite da concentração de hidrogênio no digestor pode resultar na reação do acetato como principal produtor de metano (MOLINO *et al.*, 2012).

Ainda de acordo com Dhayalan *et al.* (2007), a segunda via envolve bactérias metanogênicas hidrogenotróficas, que utilizam o dióxido de carbono e hidrogênio para formar o metano e água. A ação destas bactérias metanogênicas é crítica para conseguir uma completa degradação, porque os seus substratos têm um efeito inibitório sobre as fases iniciais de degradação.

As reações metanogênicas podem ser expressas como:



Teoricamente o biogás deveria conter volumes iguais de metano e dióxido de carbono (50% e 50%). No entanto, bactérias acetogênicas produzem tipicamente hidrogênio e, para cada quatro moles de hidrogênio consumidos por microrganismos metanogênicos hidrogenotróficos, um mol de dióxido de carbono é convertido em metano. Gorduras e proteínas podem produzir grandes quantidades de hidrogênio que conduzem a uma maior quantidade de metano típica para esses substratos. Portanto, o teor de metano no biogás pode variar para diferentes substratos, consórcios biológicos e condições do biodigestor. O teor de metano do biogás pode variar de 40 a 70% em volume, mas frequentemente está no intervalo de 55-65% (ZHANG *et al.*, 2014).

3.2.1 Condições Operacionais para a Digestão Anaeróbia

Conforme Christy *et al.* (2014) e Figueiredo (2010), vários fatores influenciam no processo de digestão anaeróbia, tais como: o potencial de biogás das matérias-primas, *design* do digestor, inóculo, natureza do substrato, pH, temperatura, taxa de alimentação, tempo de retenção hidráulica (TRH), razão carbono e nitrogênio (C/N), ácidos graxos voláteis (AGV) e o balanceamento entre bactérias produtoras de ácidos orgânicos e bactérias que produzem metano. Ainda de acordo com os autores, a digestão anaeróbia pode ser realizada como um processo descontínuo ou um processo contínuo. No processo descontínuo a biomassa é adicionada ao reator no início do processo de digestão e em processos contínuos, a biomassa é constantemente adicionada ao reator.

A temperatura é um fator importante para avaliação da produção e do rendimento do biogás formado, pois está diretamente relacionada com a atividade microbiana. Em reatores de batelada, a temperatura utilizada é em torno de 35°C (condição mesófila), nessa condição foi constatada uma atividade microbiana efetiva (RAPOSO *et al.*, 2011). A temperatura é um dos parâmetros mais significantes da digestão anaeróbia porque influencia a atividade enzimática e conseqüentemente, a geração de biogás. As bactérias podem crescer em

condições psicrófilas (12-16°C), mesófilas (25-35°C) e termófilas (55-70°C) (ZHANG *et al.*, 2014).

Muitos pesquisadores têm relatado os efeitos da temperatura na comunidade microbiana, cinética do processo, estabilidade e produção de metano. Além disso, as temperaturas mais baixas também podem resultar na exaustão de energia da célula microbiana. Em contraste, altas temperaturas apresentam baixo rendimento de metano no gás gerado devido à produção de gases voláteis, tais como amônia, que suprime as atividades metanogênicas (KHALID *et al.*, 2011).

Nos experimentos realizados por Chae *et al.*, (2008) o aumento na temperatura resultou numa redução do rendimento de biogás, devido ao aumento da inibição pela amônia (NH₃), que aumentou com a elevação da temperatura. De acordo com os resultados, a produção total de gás foi maior a 35°C.

Conforme Chae *et al.* (2008), Molino *et al.* (2012) e Raposo *et al.* (2011), para processos a temperaturas na faixa de 12 a 16°C (condição psicrófila) a atividade microbiana é reduzida, influenciando na produção de biogás que também é reduzida. Em condição termófila, temperatura entre 55 e 70°C, está relacionada à grande quantidade de energia para o aquecimento, porém o rendimento não aumenta.

A condição termófila tem uma vantagem sobre o processo em temperaturas mesófilas, as taxas de reação são mais rápidas, apresentando uma produtividade maior. No entanto, em temperaturas altas pode acontecer inibição na produção de biogás, aumento da toxicidade e maiores investimentos. As condições ideais para digestão anaeróbia seriam a hidrólise na condição termófila, a acidogênese e metanogênese na condição mesófila (MAO *et al.*, 2015).

Outro fator que influencia o processo de digestão anaeróbia é o pH, uma gama de valores de pH adequados para a digestão anaeróbia foi relatada por diversos pesquisadores, mas o pH ótimo para a metanogênese foi avaliado em torno de 7,0. Há relatos que a hidrólise e acidogênese ocorram a pH 5,5 e 6,5 (KHALID *et al.*, 2011).

A faixa de pH ideal para a DA tem sido relatada como sendo 6,8-7,4. O crescimento de microrganismos é consideravelmente afetado pela mudança de pH (MAO *et al.*, 2015). As bactérias anaeróbias necessitam de diferentes valores de pH para o seu crescimento, por exemplo, uma faixa de pH de 4,0-8,5 é necessária pelas bactérias de fermentação, enquanto um intervalo de 6,5-7,2 é favorável para o crescimento das bactérias metanogênicas. Em pH baixo, os principais ácidos graxos voláteis são os ácidos acético e butírico, enquanto que o

ácido acético e propiônico são predominantes quando o pH é em torno de 8,0 (ZHANG *et al.*, 2014).

Conforme os autores Abbasi *et al.* (2012), Yan *et al.* (2015), Zhang *et al.* (2014) a relação C/N é o fator que melhor caracteriza o equilíbrio do substrato, pois sua variação está relacionada com a velocidade de degradação do resíduo. Se esta relação é elevada, o nitrogênio é consumido rapidamente pelas bactérias metanogênicas para suprir as necessidades de proteínas e não estará disponível para reagir com o carbono do material a ser degradado e, conseqüentemente a produção de biogás será reduzida. Por outro lado, quando há relações baixas de C/N, o nitrogênio é liberado e se acumula sob a forma de amônia, aumentando o pH. Quando o pH da mistura atinge valor em torno de 8,5, ocorre um efeito tóxico sobre as bactérias metanogênicas. A razão recomendada para os ensaios de C/N é entre 20/1 a 30/1, com uma razão ótima de 25/1 para o crescimento bacteriano anaeróbio no processo de DA (ABBASI *et al.*, 2012).

O teor de carbono é fundamental para o processo de digestão anaeróbia (PEIXOTO, 2011). Embora a matéria orgânica biodegradável possa ser utilizada como única matéria-prima na digestão anaeróbia, o processo de digestão tende a falhar sem a adição de nutrientes externos e agentes tampão. A co-digestão com substratos que possuem alta capacidade de tamponamento (alcalinidade), tais como esterco podem ser alternativas para o tratamento eficaz de materiais altamente biodegradáveis. Durante a co-digestão de plantas e estrume animal, o estrume proporciona capacidade de tamponamento. O resultado é uma relação C/N mais equilibrada, e a co-digestão de estrume e plantas diminui o risco de inibição por amônia e acidificação do meio (KAFLE *et al.*, 2013).

Segundo Raposo *et al.* (2011), a biodegradabilidade está relacionada a composição do substrato e, por este motivo para um ensaio de obtenção de biogás deve-se analisar, controlar e quantificar características como a umidade, total de sólidos e sólidos voláteis.

Conforme Khalid *et al.* (2011), o teor de sólidos totais no substrato influencia o processo de DA e a quantidade de metano produzida. Abassi-Guendouz *et al.* (2012) avaliaram o impacto do teor de sólidos totais no processo de digestão anaeróbia de resíduos sólidos municipais em reatores descontínuos, onde foram avaliados teores de sólidos totais variando de 10 a 35% e, verificou-se que a produção total de metano diminuiu ligeiramente com concentrações sólidos totais aumentando de 10% para 25%. Nos ensaios com 35% de teor de sólidos totais a produção de metano foi inibida.

Hidaka *et al.* (2013) avaliaram a digestão anaeróbia em condições mesófilas e termófilas do lodo de esgoto, coletado em 3 diferentes estações de tratamento de efluentes.

Para o experimento foram utilizados cinco reatores em série, operados de forma contínua, os teores de sólidos totais utilizados para o experimento foram de 7,5 e 10%, e as temperaturas utilizadas foram 35°C e 55°C. Os autores verificaram que a remoção de sólidos voláteis foi de aproximadamente 70% nas amostras com teor de sólidos totais de 7,5% em condições mesófilas.

Os pré-tratamentos tem por objetivo aumentar a cinética da biodegradabilidade dos resíduos, e são responsáveis pelo aumento na eficiência da produção de biogás. O ultrassom é um dos pré-tratamentos mais utilizados (33%), em seguida os pré-tratamentos térmicos (24%) e os pré-tratamentos químicos (21%) (ALVAREZ *et al.*, 2012).

Dhayalan *et al.* (2007) realizaram o pré-tratamento nos resíduos de couro curtido com sais de cromo e com taninos vegetais para avaliar o processo de DA e, no final do experimento verificaram que os resíduos pré-tratados apresentaram melhor resultado em relação a produção de biogás.

Alguns métodos de pré-tratamento biológicos e químicos reduzem a natureza tóxica dos compostos fenólicos, especialmente taninos, no digestor anaeróbico. Alguns resultados mostram-se mais promissores quando é realizado um pré-tratamento biológico, pois este possibilita a degradação de compostos de baixa massa molar (DHAYALAN *et al.*, 2007).

De acordo com Zhang *et al.* (2014) várias abordagens para a realização de pré-tratamentos de substratos orgânicos têm sido propostas, estes visam acelerar a primeira etapa do processo de DA, a hidrólise, que é a etapa limitante no processo de digestão anaeróbia. Os métodos mais comuns utilizados para o pré-tratamento foram a desintegração mecânica por trituração, a utilização de ultrassom, micro-ondas, pré-tratamento térmico, químico e biológico. O pré-tratamento físico dos resíduos tem por objetivo uniformizar o tamanho das partículas. O pré-tratamento químico é importante dada às reações durante a etapa de hidrólise, usando 1,12% de HCl por 94 min ou 1,17% de HCl durante 86 min a 100°C, em resíduos de alimentos, pode-se acelerar a etapa de hidrólise no processo de DA. Entretanto a combinação de pré-tratamentos pode ser mais eficiente. O pré-tratamento químico combinado com o pré-tratamento de ultra-som e térmico para a decomposição de ligações glicosídicas em amido também foi eficiente para o processo de digestão de resíduos de alimentos. Os pré-tratamentos costumam resultar em custos mais elevados por causa da energia adicional ou produtos químicos necessários. O metano produzido como resultado de pré-tratamentos foi, em alguns casos insuficientes para compensar os custos adicionais e, portanto, resultam no pré-tratamento inviável economicamente (ZHANG *et al.*, 2014).

Shah *et al.* (2015) verificaram que o pré-tratamento e o tipo de reator são os principais fatores responsáveis pelo aumento da produção de biogás. O pré-tratamento auxilia no processo de decomposição química do substrato, tornando-o disponível para a ação dos microrganismos. Diferentes tipos de biomassas como plantas lenhosas e/ou herbáceas, gramíneas, plantas aquáticas, resíduos agrícolas, resíduos sólidos urbanos contêm diferentes quantidades de celulose, hemicelulose, lignina e foram pré-tratadas e utilizadas no tratamento anaeróbio. Vários tipos de pré-tratamentos, tais como físico, químico e biológico foram empregadas para o aumento da produção de biogás. A técnica combinatória de pré-tratamento físico e químico é eficaz quando comparada a técnica da utilização de somente um pré-tratamento.

3.3 MEDIÇÃO DO VOLUME DE BIOGÁS PRODUZIDO

Conforme Raposo *et al.* (2011) em condições experimentais os métodos gasométricos são os mais utilizados para determinar a produção de biogás. As técnicas para medir o volume do gás produzido a partir de biodegradabilidade anaeróbia incluem sistemas diferentes, tais como seringas, dispositivos de lubrificação de deslocamento de volume, manômetros ou transdutores de pressão do manômetro, seringas assistidas, medidores de fluxo ou baixa pressão e, além destes alguns medidores de fluxo automático de gás podem ser considerados como um misto de sistemas volumétrico/manométrico. Em relação ao método volumétrico, a utilização de uma seringa de vidro para medição da produção de biogás foi a primeira descrição de um sistema volumétrico para esta medição, que consistiu basicamente no deslocamento do êmbolo da seringa de vidro. Uma agulha estava inserida no reator e conforme o gás era gerado o êmbolo da seringa era deslocado. Posteriormente, o biogás produzido no interior do reator era removido para um recipiente adequado que continha uma solução de barreira externa, cuja finalidade era evitar perda de certos componentes e, em seguida foi deslocado um volume equivalente de líquido. Neste método deve-se ter o cuidado para evitar a perda de certos componentes de biogás, sendo uma alternativa a utilização de uma solução alcalina (solução barreira) para a lavagem de biogás, garantindo que a fração de metano será exclusiva.

Ainda conforme os autores em relação ao método manométrico e a cromatografia gasosa, os autores citam que método manométrico, apesar da introdução de um transdutor de pressão para medir a produção de gás, existem dificuldades em precisar a quantidade de gás produzido e, em relação a cromatografia gasosa para a quantificação da produção de gás, o

volume de metano pode ser estimado com base na fração molar do gás na câmara de expansão, não sendo um método muito utilizado porque os resultados podem ser afetados pela diferença de pressão no interior da câmara de leitura. Por este motivo, o método mais utilizado para medição do biogás gerado é a seringa.

Dhayalan *et al.* (2007), Thangamani *et al.* (2010), Yu *et al.* (2015) avaliaram o volume de gás produzido pelo deslocamento da coluna de água.

3.4 RESÍDUOS SÓLIDOS

A geração de resíduos é um problema mundial eminente, pois a destinação e o tratamento inadequados provocam prejuízos em âmbito social, ambiental e econômico à população. A produção nacional de carne suína em 2013 foi de 3,43 milhões de toneladas, tornando o Brasil o quarto maior produtor mundial conforme o Relatório de Atividades da Embrapa (2013). De acordo com o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) estima-se um aumento de 21% nas exportações de suínos até 2018/2019.

De acordo com Oliveira (1993) estima-se que cada animal produza uma média de 3,13 kg por dia de esterco. A Tabela 4 apresenta a produção diária de esterco por categoria de suíno.

Tabela 4. Produção diária de esterco suíno de acordo com a categoria do animal (adaptada de OLIVEIRA, 1993)

Categoria de suíno	Esterco (kg) /dia
Suínos entre 25 – 100 kg	2,3
Porcas em gestação	3,6
Porcas em lactação	6,4
Machos	3,0
Leitão desmamado	0,35

O aumento da produção para atender a demanda gera preocupação entre os produtores para a disposição e o tratamento dos resíduos gerados por este setor. Os resíduos de esterco de animais oriundos das atividades agroindustriais devem ser armazenados e tratados corretamente, comumente os produtores utilizam mantas geotérmicas como opção para o tratamento de esterco com o objetivo de evitar a contaminação do solo e dos recursos hídricos. Conforme Motta (2012) estes resíduos são a principal fonte de produção de odor, vermes e emissão de gás poluente.

Ainda sobre a agroindústria, em 2011/2012 foram produzidos 11,6 milhões de toneladas de arroz no Brasil. Na mesma safra foram exportadas 451 mil toneladas de arroz e deste total 230 mil toneladas de arroz parboilizado, de acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Arroz Parboilizado (ABIAP, 2012).

O arroz parboilizado além de ser um cereal importante para o consumo humano, pode ser utilizado no cultivo de fungos para o tratamento de plantas. Espécies do fungo *Trichoderma* têm potencial para tratamento de solo e promover o crescimento e tratamento de várias plantas. Em Caxias do Sul, a empresa Caxiense de Controle Biológico (ECCB) desenvolve atividades de produção e formulação de produtos de controle biológico. Atualmente, a empresa comercializa produtos obtidos a partir do cultivo de *Trichoderma* spp., com o nome comercial de TRICHODEL[®]. Este produto age no controle preventivo e curativo contra doenças causadas por fungos fitopatogênicos e para o seu cultivo utiliza-se arroz parboilizado. De acordo com a empresa, para a produção de 1L do TRICODEL[®] são gerados 450g de resíduo de arroz.

A indústria coureira tem fundamental importância na economia do Brasil, segundo o Centro das Indústrias de Curtumes do Brasil (CICB), em 2014, o país produziu 497 mil toneladas de peles, deste total verifica-se que 46% couro *wet blue*, 43,90% couro acabado, 9,50% crust e 0,60% salgado.

Ainda de acordo com a CICB, o Brasil nos últimos 2 anos produziu em média 45 milhões de pele anualmente. Para cada pele tratada, aproximadamente 4,5 kg de resíduos provenientes da etapa de rebaixamento (ajuste da espessura do couro) são gerados (DAUDT, GRUSZYNSKI e KAMPF, 2007). Dessa maneira, estima-se que são geradas 202 mil toneladas de resíduos de rebaixamento por ano, geralmente são destinados para Aterros de Resíduos Industriais Perigosos (ARIPs).

O resíduo de couro curtido com sais de cromo é um resíduo de difícil digestão anaeróbia, reduzindo a efetividade de aterros de resíduos industriais. Dessa forma, a implementação de novas/outras tecnologias pode reduzir consideravelmente a carga de poluição desta atividade industrial (DHAYALAN *et al.*, 2007).

3.4.1 Alternativas de tratamento de resíduos

Alternativas para o tratamento de resíduos gerados nas atividades agroindustriais estão sendo pesquisadas mundialmente. Os itens subsequentes abordarão as pesquisas

realizadas para os resíduos de esterco suíno, resíduo de couro, resíduo de arroz parboilizado e lodo de Estação de Tratamento de Efluentes.

3.4.1.1 Resíduo de esterco suíno

O esterco suíno é um resíduo caracterizado pela produção de odor desagradável, além disso, é fonte de patógenos e pode contaminar água, solo e ar. O crescimento deste setor e a destinação não regulamentada deste resíduo pode ocasionar graves problemas sociais, ambientais e de saúde. Assim, é necessário minimizar os riscos e a digestão anaeróbia tem sido apontada como um eficiente processo para tratamento deste resíduo (KAFLE & KIM, 2013 e RIAÑO *et al.*, 2011).

Zhang *et al.* (2014) avaliaram a digestão anaeróbia de esterco suíno e lodo de esgoto desidratado, os experimentos foram realizados em batelada com diferentes proporções de sólidos voláteis de esterco/lodo (1/0, 0/1, 2/1, 1/1 e 1/2) e mantidos em condições mesófilas. O inóculo utilizado para o experimento foi lodo de estação de tratamento de efluentes municipal, este foi tratado por digestão anaeróbia em condição mesófila por 10 dias até a geração de biogás cessar para não interferir no processo. A concentração inicial de substrato foi de 40 g/L e 100 mL de inóculo, foi borbulhado nitrogênio para garantir condições anaeróbias e posteriormente os frascos foram mantidos a 37°C por cerca de 85 dias. Antes e depois do ensaio as amostras foram analisadas quanto ao teor de ácidos graxos voláteis. As diferenças nos rendimentos de metano entre os resultados obtidos pelo esterco suíno e lodo desidratado em diferentes proporções de mistura foram avaliadas por meio de análise de variância (Anova), a significância estatística foi estabelecida em um p menor que 0,05. Os autores verificaram a proporção 2/1 (esterco/lodo) apresentou maior biodegradabilidade (53,4%). Quando comparado aos substratos sozinhos apresentou o maior rendimento de metano (de 60,3 para 82,4%) para a mistura lodo e esterco e, da mesma forma a remoção de ácidos voláteis aumentou de 45,0 para 50,1% no processo de DA do lodo e do esterco suíno. Segundo os pesquisadores, a maior biodegradabilidade pode ser devido a atividade microbiana proveniente dos componentes orgânicos do esterco suíno, contribuindo assim para uma maior capacidade hidrolítica do lodo desidratado.

Moset *et al.* (2014) avaliaram o rendimento de metano no processo de digestão anaeróbia do resíduo de esterco suíno em condições termófilas. O ensaio foi realizado em reatores CSTR a 50°C por 126 dias variando a alimentação (pouca alimentação, sem alimentação, interrupção gradativa da alimentação e interrupção imediata da alimentação) de

esterco suíno. Os autores adicionaram ração de aves ao esterco para auxiliar no processo de digestão anaeróbia em quatro dos oito reatores. No início do ensaio todos os reatores foram preenchidos com lodo de ETE municipal e posteriormente o esterco foi adicionado. O volume do gás gerado foi quantificado a cada 3 dias e a fração molar deste gás foi determinada por um cromatógrafo gasoso, com detector de ionização de chama. Ao longo do ensaio os microrganismos foram isolados e identificados pela técnica de PCR. Os autores verificaram que o rendimento médio de metano no final do tratamento foi semelhante para todos os reatores, aproximadamente 123 L/kg de sólidos voláteis e a concentração foi de 60% (no início do processo de estabilização – posterior a alimentação) e 67% no final do processo de digestão anaeróbia em todos os reatores. O reator sem alimentação apresentou maior performance durante o período de estabilização após a alimentação.

Os autores verificaram que no início do processo de DA a baixa concentração de metano pode ser justificada pela alta atividade de bactérias hidrolíticas, uma vez que houve um aumento no teor de ácidos graxos voláteis. A partir do dia 77 houve um aumento na concentração de metano e diminuição do teor de sólidos voláteis que está em concordância com a presença de bactérias identificadas como *archeas* neste período de ensaio. Entretanto, os autores ressaltam que não houve diferenças significativas nas ordens microbianas observadas nos diferentes tipos de alimentação nos reatores e nas condições deste estudo e, verificaram que as metanogêneses hidrogenotróficas foram as principais vias metabólicas na formação de metano (MOSET *et al.*, 2014).

Com o objetivo de aumentar o rendimento de biogás durante o processo de DA, Riaño *et al.* (2011) avaliaram a adição de efluentes de vinícolas ao resíduo de esterco suíno. Esta adição teve como objetivo adequar a relação carbono/nitrogênio (C/N) e consequentemente melhorar o processo de DA. O esterco suíno e o lodo da adega foram os substratos e o lodo anaeróbio da ETE de águas municipais foi o inóculo no processo de DA. Os ensaios foram realizados em reator em batelada e em reator semi-contínuo a 35°C. Foram avaliadas diferentes relações de esterco e lodo da adega (25% lodo da adega e 75% esterco suíno, 100% esterco suíno) em ambas as proporções foram adicionados o lodo anaeróbio da ETE como inóculo. O experimento em batelada teve como resultado a produção média de 269 mL de metano por grama de demanda química de oxigênio (g de metano/DQO) e o teor de metano em torno de 68%. Os experimentos realizados no reator semi-contínuo atingiram maiores resultados quando foi utilizado 75% de esterco suíno e 25% de lodo de adega (653 mL de biogás e 58,6% de metano). Os resultados mostraram que a DA do esterco com o lodo de adega diminuiu a DQO em até 52% e promoveu redução dos sólidos voláteis em 61%.

Hill *et al.* (2000) avaliaram a eficiência na produção de metano do processo de digestão anaeróbia de esterco suíno líquido de baixo teor de sólidos voláteis (1 a 2%), em condições mesófilas. As amostras de esterco suíno foram acondicionadas em um reator de 300 L a 35°C, o experimento foi realizado em triplicatas e com diferentes tempos de retenção hidráulica 5, 3, 2 e 1 dias.

O tempo de retenção é o tempo necessário para completar a degradação da matéria orgânica. O tempo de retenção hidráulica é definido pela razão do volume do reator pela vazão do afluente (MAO *et al.*, 2015).

Foi avaliado o teor de sólidos voláteis, NTK e pH do esterco suíno. O volume e as análises do teor de dióxido de carbono (CO₂) e de metano (CH₄) foram realizadas duas vezes por semana. O teor de metano com tempo de retenção de 5 dias foi de 0,36 L/ g de sólidos voláteis e 0,30 L de metano/g de sólidos voláteis, quando o tempo de retenção hidráulico foi de 3 dias. Os autores concluíram que a redução do teor de sólidos voláteis, redução da demanda química de oxigênio (DQO) e a produtividade do metano indicaram boa conversão para o metano no tempo de retenção hidráulica de 5 dias e um desempenho aceitável no tempo de retenção hidráulica de 3 dias (HILL *et al.*, 2000).

Chae *et al.* (2008) avaliaram a influência de diferentes temperaturas na faixa mesófila (25 – 35°C) e com variação das cargas de alimentação 5, 10, 20 e 40% (volume de alimentação/volume digestor) para definição de um modelo de digestor econômico na Coreia do Sul. A fim de evitar variações no experimento os autores forneceram inóculos adaptados, chamando-os de cultura mestre. Para isso utilizaram três reatores operados em condições mesófilas, a alimentação foi realizada com esterco suíno digerido e esterco suíno não digerido. Estes resíduos foram operados em regime semi-contínuo por quatro semanas até que o rendimento de biogás, pH e demanda química de oxigênio fossem constantes. Para o experimento foram utilizadas garrafas de vidro com volume de 1,2 L, estas foram preenchidas com 300g de inóculo (esterco digerido). Gás nitrogênio foi utilizado para remoção do oxigênio e estes reatores foram dispostos por 20 dias a temperaturas de 25, 30 e 35°C e o pH dos inóculos variou entre 7,2 e 7,4 e o teor de sólidos totais foi 15060 mg/L e o teor de sólidos voláteis foi 8700 mg/L. O volume de biogás produzido foi avaliado por um respirômetro anaeróbio e o gás gerado foi avaliado por cromatografia gasosa, utilizando detector de ionização de chamas e, para o cálculo de rendimento de biogás foi utilizado um analisador elementar. Na faixa de temperatura mesófila a temperatura mais alta (35°C) apresentou maior teor de metano, apesar de o rendimento não ter aumentado linearmente com o aumento da temperatura. Em relação aos microrganismos envolvidos no processo, verificou-se que as

bactérias metanogênicas são sensíveis à temperatura, porém possuem capacidade de adaptação a variações de temperaturas.

Hidalgo *et al.* (2014) avaliaram o processo de obtenção de biogás adicionando esterco suíno ao resíduo de óleo vegetal. O esterco suíno foi adicionado a este resíduo em diferentes proporções (1/3, 1/1 e 3/1). Lodos anaeróbios de estação de tratamento de efluentes municipais e lodo anaeróbio industrial alimentado com resíduos orgânicos provenientes de hotéis, restaurantes foram os inóculos adicionados no processo. Para o experimento os resíduos foram caracterizados em relação ao teor de sólidos voláteis, demanda química de oxigênio, Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), nitrogênio amoniacal, pH, teor de gordura. Os ensaios foram realizados em frascos de vidro de volume líquido de 300 mL, em triplicatas, a 35°C, com agitação constante, gás nitrogênio foi borbulhado para remoção de oxigênio. O teor de sólidos voláteis foi reduzido em 81% e obteve-se uma produção de 32,2 mL de metano/g de sólidos voláteis, utilizando uma proporção de 3/1 (esterco/óleo vegetal). Os autores concluíram que a digestão anaeróbia de resíduo gerado no processamento de óleo vegetal e esterco suíno utilizados como substratos e lodo anaeróbio de ETE municipal (inóculo) é uma solução promissora para o tratamento destes resíduos, pois é eficiente e economicamente viável.

Kafle & Kim (2013) avaliaram o desempenho da digestão anaeróbia para o tratamento de resíduos de maçã e esterco suíno. Os objetivos do trabalho foram determinar o potencial bioquímico de metano, a taxa de produção de biogás do resíduo de maçã e do esterco suíno, investigar o desempenho dos biodigestores em batelada em condições mesófilas e termófilas e verificar o desempenho de um digestor contínuo com resíduo de maçã e diferentes relações entre esterco suíno sob condição mesófila. Foi utilizado lodo digerido, proveniente de maçãs trituradas e esterco suíno digerido em condições mesófilas e termófilas (inóculo). Os experimentos foram realizados com diferentes taxas de alimentação dos resíduos de maçã e esterco suíno. Os autores utilizaram nitrogênio para remoção do oxigênio, as medições do volume de biogás foram diárias.

Os resultados mostraram que o resíduo de maçã gerou maior volume de biogás (510 mL/g DQO) quando comparado ao esterco suíno (329 mL/g DQO), entretanto o teor de metano foi maior no resíduo de esterco (81,3%) quando comparado com o resíduo de maçã (49,3%). A produção de biogás foi diferente em condições termófilas e condições mesófilas, a proporção (esterco/maçã) de 67/33 em condições termófilas apresentou maior volume de gás gerado (505 mL/g DQO) quando comparado a condições mesófilas da mesma proporção (398 mL/g DQO). Entretanto, o teor de metano foi maior em condições mesófilas, 67% contra

54,6% em condições termófilas. O esterco suíno puro sob condição mesófila, gerou 342 mL de biogás/g DQO e 75,8% de metano. Comparando os resultados, verifica-se que o volume de biogás gerado foi maior quando a mistura resíduo esterco e maçã foi utilizada. Entretanto, o teor de metano foi maior para o esterco suíno puro. No reator contínuo foi possível observar um aumento na produção de biogás e no teor de metano quando o reator foi alimentado com 33% de maçã e o restante de esterco suíno. O volume de biogás foi de 241 mL/g DQO e concentração de metano atingiu 78,7%. Quando a alimentação consistiu em 25% do resíduo de maçã, o volume de biogás gerado foi de 197 mL/g DQO e o teor de metano foi de 74%. Por fim, os autores concluíram que o resíduo de maçã apresenta um efeito sinérgico positivo para o processo de DA (KAFLE & KIM, 2013).

Abassi-Guendouz *et al.* (2012) também propõem o tratamento de esterco suíno por DA. Devido à decomposição anaeróbia de material orgânico por bactérias, o esterco suíno gera quantidades consideráveis de metano, sendo uma importante alternativa econômica principalmente, como fonte de energia renovável. Portanto, esterco tornou-se importante matéria-prima para a obtenção de energia a partir da DA.

3.4.1.2 Resíduos da indústria coureira

O couro é resultado do processo de estabilização do colágeno, proteína presente em peles de animais, após o curtimento da pele. Esse processo de curtimento pode utilizar sais de cromo ou taninos de origem vegetal, estes agentes curtentes proporcionam ao couro resistência térmica, química e biológica (DHAYALAN *et al.*, 2007).

Os resíduos gerados neste processo são destinados para aterros onde tornam-se um problema. Dessa forma, é importante que pesquisas sejam realizadas para o desenvolvimento de uma tecnologia limpa para a destinação de resíduos sólidos de couro curtido, principalmente aqueles contendo cromo (AGUSTÍ *et al.*, (2015); THANGAMANI *et al.* (2010) e COVINGTON *et al.*, (2003).

Dhayalan *et al.* (2007) avaliaram a viabilidade da DA de couro não curtido, couro curtido ao cromo e com taninos vegetais. Cinco bactérias anaeróbias foram isoladas de um lodo anaeróbio proveniente da estação de tratamento de efluentes de curtume e do lodo obtido do tratamento de águas residuais domésticas, estas bactérias foram utilizadas como inóculos. Os autores avaliaram a eficiência do pré-tratamento para remoção do agente de curtimento do couro para o processo de digestão anaeróbia e variaram a fonte de microrganismos anaeróbios.

O resíduo de couro curtido ao cromo foi pré-tratado com 200% de água, 2% de ácido oxálico e 10 mM de EDTA, à temperatura ambiente durante 2 h sob agitação. Após o ensaio as amostras foram caracterizadas quanto ao carbono orgânico, NTK, análise de ácidos graxos voláteis. O processo de DA ocorreu em 30 dias e, os resultados encontrados mostraram que: em amostras de couro não curtido o lodo anaeróbio quando adicionado proporcionou o maior volume acumulado de gás (200 mL/g) em comparação a adição de microrganismos a essa amostra (170 mL/g). Nas amostras de couro curtido com sais de cromo e com taninos vegetais o volume de gás produzido foi menor em comparação as amostras de couro não curtido. O lodo anaeróbio adicionado em amostras de couro curtido com cromo gerou 158 mL/g e a cultura mista de microrganismos anaeróbios adicionada nesta amostra teve como volume acumulado de gás produzido de aproximadamente 78 mL/g de couro. Adicionando as mesmas fontes de inóculos em amostras pré-tratadas de couro curtido com sais de cromo houve pouca diferença no resultado. As amostras de couro curtido ao cromo pré-tratadas apresentaram redução de 37,5% para o carbono e 28% para o teor de nitrogênio. Para amostras de couro curtido com taninos vegetais pré-tratadas a redução foi de 31,5% de carbono orgânico e 26,3% do teor de nitrogênio.

Covington *et al.* (2003) avaliaram a geração de biogás a partir da biodegradabilidade de resíduos sólidos de diferentes tipos de couro no que se refere ao curtimento, couro curtido com sais de cromo trivalente e taninos vegetais e pó-de-pele com a adição de microrganismos anaeróbios. Para o experimento microrganismos foram cultivados em frascos para fermentação com volume de 2 L, com meio definido adicionado semanalmente, a fim de manter uma taxa constante de produção de biogás. Em frascos de 125 mL foram adicionados os resíduos de pó de pele, 25 mL de inóculo, posteriormente estes foram vedados e analisados em triplicata. Para averiguação do volume gerado foi utilizado o método volumétrico com seringas de vidro, assim o deslocamento do êmbolo indicava o volume de gás gerado.

Foi observado que o couro curtido quando utilizado como substrato a produção de biogás é insignificante, entretanto houve um aumento na produção de biogás (110 mL) a partir de 48 horas de ensaio na amostra que continha o pó de pele no experimento com duração de 200 horas. A desnaturação térmica do material curtido com cromo obteve um resultado melhor de volume de biogás gerado (72 mL) quando comparado ao couro com mimosa, tanino vegetal, 18mL em 200 horas de ensaio. Os autores verificaram que os sais de cromo pouco influenciaram na geração de gás, houve uma ligeira diminuição na produção de biogás quando foi utilizada uma carga alta de sais de cromo (541 mg/L) em 600 horas de ensaio. Sobre os taninos vegetais foram testados os extratos de mimosa, quebracho, gambier e myrica

em concentrações que variaram de 500 a 3000 mg/L. Todos os taninos causaram um atraso na geração de biogás e, a redução no volume final foi função da concentração utilizada. Foi verificado que tanto o cromo como a mimosa são resistentes à degradação, entretanto a desnaturação pelo calor possibilita a digestão anaeróbia. Entretanto, a desnaturação tem pouca influência sobre o efeito inibidor do extrato de mimosa aplicado como curtidor do couro, indicando que a presença de taninos vegetais inibe os microrganismos anaeróbios. Conclui-se que a digestão anaeróbia do couro depende da natureza do agente curtente, após a desnaturação há diferenças no processo de digestão anaeróbia uma vez que a reação entre o agente curtente e o colágeno é desativada. Assim, o couro curtido ao cromo com posterior desnaturação térmica apresentou maior volume de biogás em relação ao couro curtido com taninos vegetais.

Thangamani *et al.* (2010) avaliaram o processo de co-digestão anaeróbia em resíduos do processamento de pele (descarne) e lodo de ETE de curtume. Os autores adicionaram inóculos e os ensaios foram realizados em frascos de vidro, em condições mesófilas. O inóculo foi preparado pela pré-digestão em laboratório, utilizando esterco bovino, resíduo de descarne, lodo ETE curtume. Os resíduos foram caracterizados quanto ao teor de sólidos totais, ácidos voláteis, pH. O volume de gás gerado foi avaliado diariamente pelo método volumétrico e o conteúdo total de metano presente no gás foi avaliada pelo método de lavagem alcalina com hidróxido de potássio, onde uma quantidade de gás coletada do reator foi injetada em um sistema contendo a solução alcalina, o deslocamento da coluna contendo a solução corresponde ao volume de metano. O lodo primário de ETE de curtume foi adicionado como diluente na proporção 1:1 e também porque poderia agir como fonte de microrganismos para o processo de digestão anaeróbia.

O reator 3, maior teor de sólidos voláteis (26,7 g/L) apresentou o maior volume acumulado de gás gerado, aproximadamente, 1860 mL, o teor de metano foi de 72 a 77%, o reator 2 (teor de sólidos voláteis de 21,2 g/L) teve um rendimento de 1484 mL com teor de metano entre 75 e 77% e, o reator 1 (teor de sólidos voláteis 17,2 g/L) gerou 648 mL de gás, com o teor de metano entre 71 e 76%. A redução do teor de sólidos no reator 1 foi de 51,97%, o reator 2 apresentou redução de 44,33% e o reator 3 apresentou redução de 41,19%. Por fim, os autores concluíram que a redução do teor de sólidos voláteis está relacionada com o processo de DA e, a co-digestão de resíduos de descarne e lodo de ETE primário são passíveis de tratamento anaeróbio para a recuperação de biogás com alto teor de metano.

Priebe *et al.* (2014) caracterizaram o gás gerado por resíduos sólidos de couro em aterro de resíduo perigoso industrial. Foram coletadas amostras de biogás em dutos de

exaustão do gás, em duas células do aterro que contemplam três curtumes diferentes da região do Vale do Rio dos Sinos (Brasil). Os aterros continham resíduos de couro *wet blue* (guarnições e aparas) e lodo primário contendo cromo (a partir das ETE de curtume). As concentrações de metano, dióxido de carbono, nitrogênio, ácido sulfídrico e oxigênio foram avaliadas por cromatografia gasosa. O ácido sulfídrico foi quantificado a partir da passagem da amostra através de uma série de borbulhadores que continham solução de sulfato de cádmio onde o ácido sulfídrico é absorvido e há formação de sulfeto de cádmio, este último foi quantificado por iodometria.

Os autores verificaram que a primeira geração de metano é resultado da elevada biodegradabilidade do substrato, que pode ser justificada pela presença de lamas com elevada carga orgânica, que contém microrganismos que auxiliam no processo de digestão anaeróbia. A baixa concentração de oxigênio pode ser associada ao influxo de ar atmosférico durante a drenagem de lixiviados no aterro. A geração de ácido sulfídrico ocorre praticamente em todas as fases de desenvolvimento do aterro em função das concentrações elevadas de enxofre nos resíduos de couro. Assim, o metano formado por microrganismos hidrogenotróficos e geração de ácido sulfídrico estariam relacionados com o envolvimento de microrganismos acetogênicos redutores de sulfato e/ou consumidores de hidrogênio a partir de processos acidogênicos. Por fim, conclui-se que a diferente disponibilidade/degradabilidade dos resíduos, juntamente com diferenças de compressão e disponibilidade de água no interior da massa de resíduos pode favorecer a formação de bolsões de gás e áreas com diferentes comportamentos em termos de processos de degradação. Todos estes parâmetros tornam muito difícil avaliar os processos biológicos que ocorrem dentro de um aterro pela simples avaliação dos gases gerados (biogás). Conclui-se que devido a heterogeneidade dos aterros de resíduos industriais perigosos torna-se difícil avaliar os processos biológicos que ocorrem dentro do aterro somente pela avaliação do biogás gerado, entretanto verificou-se que os microrganismos presentes nos aterros são capazes de degradar os resíduos produzindo metano (PRIEBE *et al.*, 2014).

3.4.1.3 Resíduo de arroz parboilizado

O processo de parboilização do arroz consiste na adição do cereal em água quente, acima de 58°C, por 8 horas. Este processo enriquece o cereal quanto ao valor nutritivo (ABIAP, 2013).

A composição nutricional do arroz parboilizado é apresentada na Tabela 5.

Tabela 5. Composição nutricional aproximada do arroz parboilizado (adaptado de FARIA, 2008)

Componente (em 100g)*	Arroz Parboilizado (polido)
Proteína (g NTK x 5,95)	6,79
Lípídeos totais (g)	0,56
Carboidratos totais (g)	81,72

Nota: *Dados calculados a 14% de umidade

O teor de proteína foi determinado por meio do conteúdo de nitrogênio total da amostra, determinado através do método de Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) utilizando fator de conversão nitrogênio-proteína de 5,95 (FARIA, 2008).

Na maioria dos alimentos o nitrogênio corresponde aproximadamente a 16% do peso da proteína, o que implica indiretamente que em 100 g de proteína tem-se 16 g de N, e $100/16 = 6,25$, que corresponde ao fator de conversão de nitrogênio-proteína. Dessa maneira, quando a concentração de nitrogênio total é convertida em proteína utilizando-se o fator de conversão 6,25, considera-se que todo nitrogênio recuperado é proveniente, principalmente, da proteína e que a contribuição de substâncias nitrogenadas não-protéicas, como nitrogênio inorgânico (nitrato, nitrito) e outras fontes de nitrogênio orgânico (nucleotídeos, ácidos nucléicos, aminoácidos livres, pequenos peptídeos, quitina, clorofila), é desprezível. O fator de conversão nitrogênio-proteína 6,25 foi estabelecido por Jones já em 1931, para proteínas da carne que contêm 16% de nitrogênio em sua constituição e quantidade reduzida de nitrogênio não-protéico. Contudo, o fator de conversão 6,25 não pode ser aplicado universalmente a todos os alimentos, pois a porcentagem de nitrogênio na proteína é variável em função da composição em aminoácidos e da presença de nitrogênio de outras origens (GUIMARÃES & LANFER-MARQUES, 2005).

Após pesquisa na literatura observou-se que os estudos realizados sobre o arroz se referem, principalmente, aos resíduos do processo de produção, como o resíduo de casca de arroz e o efluente líquido do processo de parboilização. Nenhum trabalho sobre a utilização de resíduos do grão deste cereal para geração de biogás foi encontrado.

Chae *et al.* (2008), Kafle *et al.* (2013) e Quian *et al.* (2013) avaliaram a DA do resíduo de casca de arroz por microrganismos anaeróbios visando à produção de biogás. Ramprakash & Muthukuma (2014) avaliaram o efluente líquido do processo de parboilização do arroz para geração de biohidrogênio com diferentes microrganismos (*E. aerogenes* e *C. ferundi*). A produção de biogás também foi avaliada por Shrivasta *et al.* (2011) a partir de efluentes do processo de parboilização de arroz por digestão anaeróbia, devido à alta concentração de matéria orgânica.

Em Caxias do Sul, a empresa Caxiense de Controle Biológico (ECCB) desenvolve atividades de produção e formulação de produtos de controle biológico. Atualmente, a empresa comercializa produtos obtidos a partir do cultivo de *Trichoderma* spp., no arroz parboilizado, com o nome comercial de TRICHODEL®. Este produto age no controle preventivo e curativo contra doenças causadas por fungos fitopatogênicos.

3.4.1.4 Lodo de Estação de Tratamento de Efluentes

Conforme Kaloum *et al.* (2011) e Traversi *et al.* (2015) os lodos de estação de tratamento de efluentes possuem contém uma quantidade significativa de água, matéria orgânica e microrganismos. A estação de tratamento de águas municipais tem por objetivo eliminar a poluição contida nos efluentes domésticos e industriais, assim o lodo pode ser considerado como um resíduo que pode ser tratado pela digestão anaeróbia.

Kaloum *et al.* (2011) avaliaram o tratamento de lodo de ETE municipal para geração de energia. O processo de digestão anaeróbia foi realizado em um biorreator com volume de 1L, fechado, mantido a 35°C e agitado regularmente. O lodo foi caracterizado quanto ao teor de sólidos totais, teor de sólidos voláteis, demanda química e biológica de oxigênio, total de microrganismos e coliformes fecais. O volume de biogás foi determinado através de um manômetro preenchido com água, assim o deslocamento de água correspondia ao volume de gás gerado e, poder calorífico do biogás foi determinado. Foram utilizados 10L de lodo, extraídos no fundo do primeiro tanque de sedimentação. Os valores de pH, a alcalinidade total, teor de ácidos graxos voláteis, demanda química e bioquímica de oxigênio foram avaliados. O ensaio de digestão anaeróbia foi concluído em 33 dias, quando não houve mais geração de biogás.

Durante o processo houve variação de pH de 6,3 a 6,95, a relação entre ácidos graxos voláteis e a alcalinidade total no decorrer do ensaio foi menor que 0,5, o que indica a viabilidade do processo de DA. Constatou-se a produção de biogás até o dia 26, após este dia o volume foi reduzindo até o final do ensaio, sendo que a quantidade total de biogás foi de 17,52 NmL/g sólidos totais, deste, cerca de 45% de metano. A redução do teor de sólidos foi de 81%, eliminando microrganismos patogênicos. Assim, os autores concluíram que é possível estabelecer uma relação entre os parâmetros físico-químicos e biológicos, uma vez que houve redução do teor de sólidos totais e redução total dos microrganismos transformando a matéria orgânica em biogás.

Kuglarz *et al.* (2013) avaliaram a eficácia do pré-tratamento por micro-ondas e diferentes temperaturas no processo de digestão anaeróbia de lodo de ETE municipal. Os pré-tratamentos aplicados foram micro-ondas 700W, micro-ondas 900W e método térmico com aumento de temperatura de 20 a 100°C. Após atingir a temperatura máxima, o lodo foi resfriado até cerca de 10°C em reatores contínuos e em reatores de batelada.

Os autores caracterizaram o lodo quanto ao teor de sólidos totais e voláteis, DQO, teor de nitrogênio, fosfatos, cálcio, magnésio, amônia. O metano gerado foi avaliado por cromatografia gasosa, utilizando detector por ionização de chama. As avaliações microbiológicas tiveram por objetivo determinar o número total de bactérias *E. coli*, *Salmonella* spp. e *Clostridium perfringens*. Os autores observaram que o aumento da temperatura de pré-tratamento do lodo provocou aumento da quantidade de metano produzida e que o pré-tratamento por micro-ondas não afeta significativamente o potencial metano (teste t, $p > 0,05$). No processo de digestão anaeróbia em batelada os autores verificaram que os lodos que não foram pré-tratados a produção de metano foi de 0,176 m³/kg sólidos voláteis. Verificou-se que no processo em batelada houve um aumento na produção de metano entre 41-52% após o pré-tratamento por micro-ondas, com temperaturas que variaram entre 60 e 70°C. O volume de metano foi cerca de 50% mais baixo para o tratamento térmico em comparação com pré-tratamento com micro-ondas. No processo de digestão anaeróbia semi-contínuo verificou-se que para o tempo de retenção hidráulica entre 15 e 25 dias o pré-tratamento por micro-ondas resultou em maior produção de metano (0,239- 0,359 m³/kg sólidos voláteis), em comparação com as lamas não tratadas (0,213-0,283 m³/ kg sólidos voláteis). Não houve diferença significativa na produção de biogás obtido para lodo pré-tratado a 60°C e 70°C (teste t, $p > 0,05$). O maior aumento de produção de metano (35%) foi observado em com tempo de retenção hidráulica de 17 a 20 dias (0,350 a 0,359 m³ / kg de sólidos voláteis). A estabilidade do processo foi avaliada com base na relação (ácidos graxos voláteis / alcalinidade total) foi entre 0,14 a 0,17, sendo este parâmetro inferior a 0,4 indicando que não houve inibição sobre o processo de conversão de biogás. As diferenças entre os resultados de pré-tratamento foram avaliadas pela ANOVA one-way seguido de Tukey-test com nível de significância de 0,05. Os autores verificaram que o pré-tratamento por micro-ondas antes do processo de digestão anaeróbia teve melhor resultado para produção de biogás quando comparado ao pré-tratamento térmico. O tratamento por micro-ondas na potência de 900W e 70°C antes da digestão anaeróbia e o tempo de retenção de 15 a 25 dias garantiu a ausência de *Salmonella* spp., *E. coli* e diminuição de 50% de *C. perfringens*.

Arhoun *et al.* (2013) avaliaram o processo de digestão anaeróbia de resíduo de peras com lodo de ETE municipal em um digestor com alimentação contínua e não contínua. O volume de trabalho do digestor foi de 5L, com temperatura a 35°C, agitação de 100 rpm.

As análises realizadas foram teor de sólidos totais, voláteis e DQO. O volume de biogás gerado foi medido por um método de deslocamento de volume de água e a sua composição foi determinada por cromatografia fase gasosa com detector de condutividade térmica, coluna Supelco e gás hélio como gás de arraste. Avaliando os resultados experimentais os autores concluíram que a alimentação contínua permite o tratamento de quase o dobro da quantidade de resíduos com a mesma concentração de metano.

3.5 ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS E ATIVIDADES ENZIMÁTICAS NO PROCESSO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA

Consórcios microbianos estão presentes no processo de digestão anaeróbia, o isolamento e manipulação de microrganismos durante o processo pode acarretar em um aumento no rendimento de biogás.

As bactérias degradam substrato através do uso de enzimas. As enzimas são moléculas proteicas que catalisam reações bioquímicas. Há dois tipos de enzimas envolvidas na degradação de substrato, as intracelulares e as extracelulares. A produção de enzimas extracelulares e solubilização de substratos levam várias horas. Todas as bactérias produzem enzimas intracelulares, mas nem todas as bactérias produzem enzimas extracelulares, cada enzima extracelular, bem como cada enzima intracelular degrada apenas um substrato específico ou um grupo de substratos. Assim, um grande e diverso consórcio de bactérias é necessário para assegurar que os tipos apropriados de enzima extracelular e enzima intracelular estejam disponíveis para degradação dos substratos presentes (CHRISTY *et al.*, 2014).

Korzeniewska *et al.* (2014) avaliaram viabilidade de melhoria no processo de digestão anaeróbia a baixa temperatura usando *Methanococcoides burtonii* em biorreatores de laboratório para tratamento anaeróbio de substratos de glicose, lodo de esgoto, esterco líquido bovino e alguns resíduos de alimentos (soro de queijo em pó). O processo ocorreu a 20°C com um tempo de retenção hidráulica de 50 dias e adição de 100 mL de inóculo em diferentes concentrações de demanda química de oxigênio (DQO) dos substratos (0,2 a 10 g/L) num volume total de 500 mL. O valor da pressão medida no interior dos respirômetros anaeróbios foi usada para calcular o volume de biogás produzido em relação a condições normais e um

cromatógrafo gasoso utilizado para quantificar os teores de metano, dióxido de carbono, ácido sulfídrico, amônia, água e oxigênio. Antes de alimentar os tanques de fermentação, os substratos orgânicos analisados foram biodegradados durante 5 dias a uma temperatura de 35° C em reatores de 200 mL, este procedimento foi destinado a iniciar a fase ácida do processo de fermentação de metano e a produção de ácidos graxos voláteis que constituem um substrato para os microrganismos produtores de metano. Antes de alimentar o digestor, os substratos foram autoclavados para inativar microrganismos. O estudo foi realizado com a bactérias *archeas* psicrófilas, o *M. burtonii* que tem sua origem da coleção alemã de microrganismos e culturas celulares (Leibniz-Institut DSMZ e Deutsche Sammlung von und Mikroorganismen Zellkulturen GmbH). *M. burtonii* foi cultivado numa câmara de anaerobiose a uma temperatura de 20°C, em um meio de cultura neutro (pH 7,0 e 7,2) preparado sob condições anaeróbias.

Os autores obtiveram o maior rendimento de produção de biogás (133 mL CH₄/g DQO) na amostra de lodo de esgoto com concentração inicial de 0,2 g/L DQO com teor de metano de 53,4%. O elevado teor de metano e alto rendimento na produção de biogás também foi encontrado nas amostras de lodo de esgoto com DQO inicial de 2,0 g/L, nas amostras de esterco bovino líquido com 5,0 g de DQO inicial /L o conteúdo de CH₄ no biogás atingiu teores entre 37,6 e 57,1%. Levando-se em conta a quantidade de biogás produzido e concentração de CH₄, a partir de vários substratos orgânicos em condições psicrófilas, utilizando *M. burtonii*, os resultados deste estudo podem ser considerados promissores.

Gu *et al.* (2014) avaliaram o efeito de diferentes fontes de inóculo na digestão anaeróbia do resíduo de palha de arroz. Esterco bovino digerido, esterco suíno digerido, esterco de galinha digerido, lodo de ETE municipal, lodo de ETE de uma cervejaria, lodo de ETE de indústria de papel foram utilizados como inóculos. A palha de arroz (substrato) foi digerida em digestores em batelada, com volume de trabalho de 400 mL, ao substrato foram adicionados 6 diferentes inóculos, com razão de 0,5 de inóculo/substrato (volume/volume). Os ensaios e controle foram realizados com a mesma quantidade de inóculo e água destilada e, todos os ensaios foram realizados a 37°C por 40 dias. Volume de biogás foi medido diariamente por uma seringa de vidro, a caracterização deste gás foi realizada por análise cromatográfica. As atividades enzimáticas de xilanases e celulasas foram avaliadas, os resíduos foram caracterizados pelo teor de sólidos totais e voláteis. Os autores obtiveram como melhor resultado o esterco bovino digerido (inóculo) e lodo granular anaeróbio, pois apresentou a maior relação teor total de produção de biogás e metano (54,8%), o que levou à maior produção específica de metano (178,3 mL/g sólidos voláteis). Os pesquisadores

observaram que os reatores com inóculos digeridos apresentaram produção de biogás maior e mais estável do que os reatores inoculados com lodo de ETE. A palha de arroz inoculada com esterco bovino digerido obteve a maior degradação de celulose (60,3%), seguido por esterco suíno digerido (53,7%), lodo anaeróbio de cervejaria (51,8%). A hemicelulose mostrou menor biodegradabilidade do que a celulose, esterco bovino digerido obteve a maior degradação de hemicelulose (33,7%). Verificou-se que a taxa de degradação da celulose e hemicelulose estava de acordo com a produção de biogás, a maior degradação da celulose e hemicelulose foi observada em reatores com elevada produção de biogás. As atividades enzimáticas de celulase e xilanase mais elevadas foram observadas nos reatores com maior taxa de degradação de celulose e hemicelulose, os reatores com esterco bovino digerido tiveram a maior atividade de celulase, antes e após a digestão. Por fim, conclui-se que as atividades enzimáticas estão relacionadas com o processo de degradação e, quanto maior a degradação maior será o rendimento de biogás produzido.

Yu *et al.* (2014) avaliaram a digestão anaeróbia de resíduos sólidos municipais e lodo de ETE municipal quanto à geração de biogás e a comunidade *archaea* metanogênica presente no processo em condições mesófilas e termófilas, com controle de carga orgânica. Para o experimento foi utilizado um reator semi-contínuo com alimentação realizada 1 vez ao dia. A digestão anaeróbia em condições mesófilas foi operada por 19 semanas com temperaturas entre 35 e 37°C e, em condições termófilas por 20 semanas com temperaturas entre 55 e 57°C. A alimentação foi realizada pela adição de resíduos sólidos e lodo, o reator foi agitado a cada 2 horas por 30 minutos a 160 rpm, o teor de sólidos voláteis foi mantido em 8% e com tempo de retenção hidráulica de 8 horas. O volume de gás foi medido por um contador e a fração de metano foi determinada por um cromatógrafo gasoso. A fim de estudar as comunidades microbianas, o DNA total foi extraído a partir de 0,25 mL de lodo na saída do reator, para os tratamentos em condições termófilas e mesófilas posteriormente o DNA foi amplificado por PCR.

Os autores verificaram que em condições termófilas houve um melhor rendimento na produção de biogás, aproximadamente 750 L/kg.sólidos voláteis de biogás com um teor de metano entre 54,5 a 61,2% gerado com alimentação de 3 kg de sólidos voláteis/m³.dia, ao passo que com a mesma alimentação e em condições mesófilas houve a produção de aproximadamente 629 L/kg.sólidos voláteis de biogás com teor de metano variando entre 51,2 a 62,2%. Em condição mesófila o melhor resultado foi com uma taxa de alimentação de 5 kg de sólidos voláteis/m³.dia cujo volume de biogás gerado foi de 689 L/kg.sólidos voláteis com teor de metano variando de 44,4 a 62,6%. O acúmulo de biogás foi monitorado durante oito

horas, no final das quais a taxa de produção começou a diminuir. A razão aparente para este resultado é que os microrganismos termófilos expressam maior taxa de processamento de matéria orgânica em sua temperatura ideal. O sequenciamento sugere que a diversidade da comunidade metanogênica no digestor anaeróbio foi limitada. Cinco domínios metanogênicos de archea (*Methanobacteriales*, *Methanococcales*, *Methanomicrobiales*, *Methanosarcinales*, e *Methanopyrales*), apenas *Methanobacteriales* e *Methanosarcinales* foram encontrados em abundância em ambos os processos, enquanto também *Methanothermobacter* estava presente no processo termófilo e *Methanomicrobiales* (por exemplo *Methanospirillum*) no ciclo mesofílico. *Methanosarcinales* é a espécie que pode usar mais de um substrato para a produção de metano, por exemplo, acetato, hidrogênio, dióxido de carbono, monóxido de carbono. Fatores como a concentração de acetato acima do limite, altas taxas orgânicas e a presença de substratos essenciais, como propionato foram potencialmente responsáveis pela dominância de *Methanosarcina*. Por fim, os autores verificaram que o processo termófilo é mais estável e, mesmo que haja variações da quantidade de bactérias archea a produção de biogás não será afetada.

Conforme Christy *et al.* (2014) durante o processo de digestão anaeróbia, os microrganismos presentes na fase de hidrólise e acidogênese crescem cerca de dez vezes mais rápido que os microrganismos metanogênicos. Durante a acidificação de açúcares, ácidos graxos de cadeia longa e aminoácidos resultantes da hidrólise são utilizados como substratos para microrganismos fermentativos como (*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*) que, produzem ácidos orgânicos como o ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, outros ácidos graxos de cadeia curta, álcoois, hidrogênio e dióxido de carbono. O acúmulo de elétrons, tais como lactato, etanol, propionato, butirato e ácidos graxos voláteis são responsáveis pelo aumento de bactérias para aumentar a concentração de hidrogênio no meio. A abundância relativa de bactérias dentro de um digestor anaeróbio frequentemente é superior a 10¹⁶ células por mL. Esta população é constituída por bactérias sacarolíticas (aproximadamente 10⁵ células / ml), e bactérias formadoras de metano (aproximadamente 10⁸ células / ml).

Ainda conforme os autores o pré-tratamento da biomassa e hidrólise são áreas que necessitam de melhoria para a produção econômica de biogás a partir de matéria orgânica complexa, tais como material lignocelulósico e lodo de esgoto. Foi verificado que na etapa de hidrólise, os materiais orgânicos complexos insolúveis são hidrolisados por enzimas extracelulares, esta é uma etapa limitante da velocidade do processo.

A atividade enzimática é um dos fatores que pode implicar na eficiência durante o processo de conversão de resíduos em biogás. Portanto, a presença de microrganismos capazes de produzir estas enzimas pode ser responsável pelo aumento na produção de biogás.

Kaloum *et al.* (2014) verificaram a redução do teor de sólidos totais como resultado da transformação da matéria orgânica em biogás e também a redução total da população microbiana. Foi possível verificar que a duração das etapas da digestão anaeróbia em seus experimentos: a hidrólise-acidogênese e acetogênese duraram 5 e 2 dias, respectivamente. A etapa metanogênica foi iniciada a partir do 7º dia de ensaio, onde verificou-se um teor de 45% de metano.

Parawira *et al.* (2014) avaliaram a atividade enzimática do resíduo de batata com lodo de ETE anaeróbio e verificaram que o aumento e diminuição dos níveis de atividades enzimáticas podem ser devido a vários fatores, tais como o enriquecimento microbiano, a produção de enzimas e da estabilidade, da disponibilidade de substrato, pH e temperatura. Os autores concluíram que a hidrólise pode ser melhorada por meio da inoculação dos resíduos com microrganismos produtores de enzimas hidrolíticas específicas para os resíduos em questão.

Traversi *et al.* (2015) realizaram análises químicas e biológicas em amostras de lodo de ETE demanda química de oxigênio (DQO), pH, Sólidos Suspensos Totais (SST) e voláteis Sólidos Suspensos (VSS) em amostras de lodo foram avaliados. Os autores verificaram que as comunidades microbiológicas nos digestores variaram, principalmente, como uma função da carga orgânica.

Balasubramanian & Nelson Simões (2014) verificaram que *Bacillus* sp. são um potente produtor de enzimas extracelulares. As proteases de *Bacillus* sp. são utilizados em diversas indústrias, tais como alimentos, produtos químicos, detergentes, e as indústrias de couro.

Dettmer *et al.* (2012) realizaram o isolamento e seleção de microrganismos para avaliar as atividades proteolíticas e a otimizar a produção da enzima que pode ser aplicada na indústria coureira na etapa de depilação. A capacidade de remoção das peles foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura e a atividade enzimática foi determinada por determinação de proteoglicano, glicosaminoglicanos, e hidroxiprolina. Os autores isolaram microrganismos do lodo da estação de tratamento de efluentes de uma indústria coureira e a identificação foi através do sequenciamento do gene 16S rRNA, identificando os microrganismos como bactérias *Bacillus subtilis*. Para o presente estudo os autores inocularam os microrganismos isolados e, avaliaram a atividade enzimática destes.

Os autores concluíram que os microrganismos isolados, *B. subtilis*, são excelentes produtores de enzimas proteolíticas com capacidade de auxiliar no processo de depilação das peles na indústria coureira. O planejamento experimental Plackett-Burmann e o planejamento com composto central foram modelos que auxiliaram na definição para uma composição ótima do meio de cultivo, pH e temperatura com o objetivo de aumentar a atividade enzimática e, assim reduzir os custos gerais de produção de proteases para indústria do couro (DETTMER *et al.*,2012)

A adição de microrganismos isolados a partir de amostras com alta produção de metano será avaliada neste trabalho.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão descritos os materiais e as metodologias analíticas e experimentais utilizadas para avaliar a produção de biogás a partir da co-digestão anaeróbia dos resíduos de arroz, couro, esterco suíno, lodo de estação de tratamento de efluentes da Universidade de Caxias do Sul e lodo da estação de tratamento de efluentes de curtume.

4.1 MATERIAIS

O resíduo de arroz, utilizado no experimento como substrato, foi fornecido pela Empresa Caxiense de Controle Biológico Ltda (ECCB). Foram fornecidos cerca de 5 kg de arroz que é utilizado para produção do fungo *Trichoderma* spp. O *Trichoderma* spp. é utilizado para controle preventivo e curativo das doenças causadas em plantas por fungos fitopatogênicos.

O esterco suíno (inóculo) foi coletado em propriedade particular do município de Ibirubá, Rio Grande do Sul, foram disponibilizados aproximadamente 4 kg de esterco. As amostras de esterco serão identificadas conforme a alimentação fornecida aos animais, sendo assim o esterco (A) caracteriza a alimentação por aveia e esterco (R) a alimentação por ração.

A empresa Peles Pampa, localizada no município de Portão, Rio Grande do Sul, disponibilizou cerca de 6 L de resíduo de lodo de estação de tratamento de efluentes (ETE) de curtume (inóculo) e, aproximadamente 2 kg de resíduos de rebaixamento de couro curtido com sais de cromo, gerados no processo industrial da empresa.

A amostra de 2 L de lodo aeróbio da ETE da Universidade de Caxias do Sul (UCS) foi disponibilizada pela instituição.

4.2 MÉTODOS

A fim de avaliar o volume de gás gerado e caracterizá-lo quanto às frações molares, foram realizados experimentos variando as quantidades de inóculos e substratos. Nos itens a seguir será descrita a metodologia utilizada para atender os objetivos propostos neste trabalho.

4.2.1 Ensaios de digestão anaeróbia

Nos itens a seguir serão apresentadas as metodologias utilizadas para a avaliação da geração de biogás.

4.2.1.1 Avaliação inicial da produção de biogás

Para o ensaio de digestão anaeróbia ser eficaz, parâmetros como teor de cromo, teor de carbono orgânico entre outros devem ser estabelecidos e atendidos. A Figura 2 apresenta as análises de caracterização realizadas em duplicatas neste experimento.

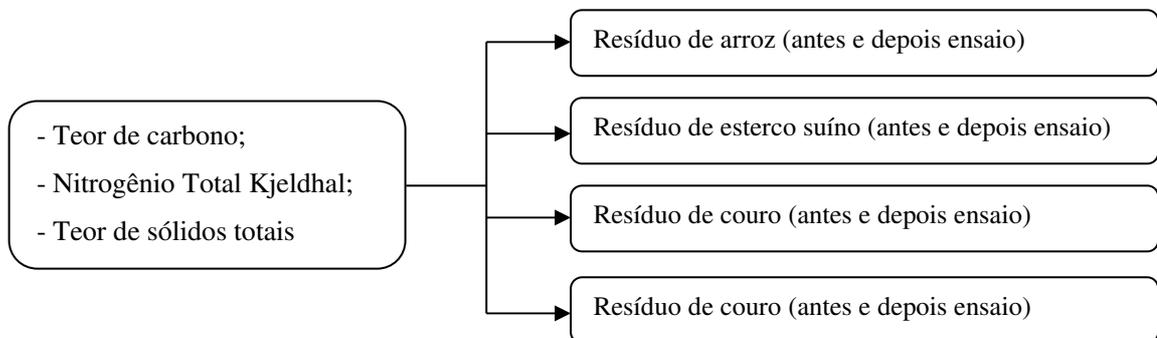


Figura 2. Análises de caracterização dos resíduos utilizados para o processo de digestão anaeróbia (o autor)

Inicialmente, avaliou-se a produção de biogás a partir de diferentes combinações de resíduos. Os ensaios de digestão anaeróbia foram realizados dispondo as amostras de resíduos em frascos de vidro tipo penicilina com volume total de 100 mL, vedados com tampa de borracha e lacre de alumínio. Borbulhou-se nitrogênio visando eliminar o oxigênio presente no meio antes da vedação dos frascos, uma vez vedados os frascos foram dispostos em um banho termostático a temperatura de 35°C. O volume do gás gerado foi avaliado pelo método volumétrico. O Quadro 1 apresenta combinações utilizadas.

Quadro 1. Composição das amostras para avaliar a geração de gás (o autor)

Composição
Arroz
Arroz + estrume (A)
Arroz + solução tampão
Arroz + estrume (A) + solução tampão
Arroz + lodo de ETE de curtume
Couro
Couro + lodo de ETE de curtume
Couro + solução tampão
Couro + estrume (A)
Couro + estrume (A)+ solução tampão
Couro pré tratado quimicamente
Couro pré tratado quimicamente + solução tampão
Couro pré tratado quimicamente + lodo de ETE de curtume
Couro pré tratado quimicamente + estrume (A) + solução tampão
Couro pré tratado quimicamente + estrume (A)
Couro pré tratado quimicamente + estrume (A) + lodo de ETE de curtume
Esterco(A)
Esterco (A) + solução tampão
Lodo de ETE de curtume

As amostras do resíduo de couro foram pré-tratadas. O pré-tratamento químico foi adaptado da metodologia utilizada por Dhayalan *et al.* (2007), utilizando 200% de água destilada, 0,003 g de ácido oxálico e 0,003 g de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Após a adição destes reagentes, os componentes foram agitados com um bastão de vidro, com o objetivo de homogeneizar a mistura.

A relação C/N está relacionada com a velocidade de degradação dos resíduos por microrganismos. Com o objetivo de manter essa relação na proporção ideal para o ensaio de DA foi considerada neste trabalho a relação 12:1, assim foram utilizadas 5 g (base seca) do resíduo de arroz, 5 g (base seca) do resíduo de couro, 3 g (base seca) do esterco suíno.

O volume de lodo de curtume utilizado para o experimento foi determinado a partir do experimento de Covington *et al.* (2003), que utilizaram 25 mL de inóculo para 0,5 g de substrato. Com base neste trabalho, foram utilizados 50 mL de lodo de estação de tratamento de efluentes (ETE) de curtume para 1 g de arroz, a mesma quantidade de lodo para 1g de couro.

Utilizou-se solução tampão com pH em torno de 7,0, medido através do pHmetro da marca Digimed, modelo DM-22. Esta solução foi obtida através da solubilização de fosfato de potássio monobásico 0,1 mol/L e hidróxido de potássio 0,2 mol/L em água deionizada. A solução tampão foi utilizada com o objetivo de estabilizar o pH de forma a auxiliar o processo de digestão anaeróbia e, o volume de tampão adicionado aos frascos foi calculado visando

4 MATERIAIS E MÉTODOS

manter o teor de sólidos totais em torno de 9%. Conforme Raposo *et al.* (2011) o teor de sólidos totais não deve ultrapassar 10% para a boa biodegradabilidade do resíduo.

Foram realizados ensaios “controle”, nos quais se avaliou a produção de gás de cada amostra de resíduo separadamente.

Os resíduos e suas misturas permaneceram em ensaio enquanto foi constatada a geração de volume de gás pelo processo de digestão anaeróbia, através de medições diárias conforme descrito no item 4.2.4. Após 19 dias (404 horas) em ensaio verificou-se que não havia mais geração de gás, e as amostras foram retiradas do ensaio e enviadas para realização de análises para determinação do teor de carbono orgânico e nitrogênio total Kjeldahl no LAPAM.

4.2.1.2 Isolamento de microrganismos a partir das combinações com maior geração de biogás

O isolamento dos microrganismos foi realizado a partir das combinações que apresentaram os maiores volumes de gás gerado. A permissão de acesso ao patrimônio genético foi obtida junto ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA), com número de autorização 02001.003486/2013-86. O isolamento foi realizado utilizando 1mL de cada combinação (Quadro 1). Este volume foi transferido para os tubos de ensaio contendo 9 mL solução salina estéril (9 g/L). Esta alíquota sofreu diluições seriadas e, posteriormente foi plaqueada em placas de Petri contendo meio de cultivo ágar LB, definido como meio sólido (MS). O MS foi preparado pela homogeneização de peptona 10g/L, NaCl 10g/L e extrato de levedura 5g/L, 15 g/L ágar e água destilada.

Estas placas foram dispostas em estufa a 35°C, sendo observado o crescimento de microrganismos com diferentes morfologias, os quais foram isolados.

4.2.1.3 Geração de biogás pelos microrganismos isolados

Os microrganismos isolados a partir das combinações do item 4.2.3.1 foram inoculados em amostras de arroz e resíduo de couro pré-tratado quimicamente. Preparou-se um pré-inóculo contendo cada um dos microrganismos isolados, utilizando-se o meio de cultivo LB, definido como meio líquido (ML) a partir da solubilização de 5 g/L de extrato de levedura, 10 g/L de peptona, 10 g/L de cloreto de sódio e água destilada. Unidades formadoras de colônias de microrganismos isolados foram adicionadas ao ML, posteriormente

4 MATERIAIS E MÉTODOS

foram dispostas em um banho termostático a 35°C até constatada a densidade ótica (DO) do meio a 600 nm igual a 1,0.

O volume de pré-inóculo foi adicionado de forma a manter o teor de sólidos totais em 9%. As combinações foram dispostas em frascos de vidro de volume total de 100 mL, nitrogênio foi borbulhado para remoção do oxigênio e em seguida os frascos foram vedados com tampa de borracha e lacre de alumínio e dispostos em banho termostático a temperatura de 35°C.

Foi realizada a avaliação do volume de biogás gerado em cada amostra, de modo a comparar a eficiência de cada inóculo quanto a geração de biogás. A Tabela 6 apresenta a identificação das amostras dos inóculos adicionados aos resíduos de arroz e couro.

Tabela 6. Identificação das amostras de resíduos e dos inóculos adicionados (o autor)

Descrição	Identificação	Inóculo (origem)
Arroz + inóculo	Microrganismo B	Solução tampão + arroz
Arroz + inóculo	Microrganismo A	Lodo de ETE curtume +couro
Arroz + inóculo	Microrganismo C	Lodo de ETE curtume + arroz
Arroz + inóculo	Microrganismo D	Lodo de ETE curtume+ arroz
Resíduo de couro + inóculo	Microrganismo B	Solução tampão + arroz
Resíduo de couro + inóculo	Microrganismo A	Lodo de ETE curtume +couro
Resíduo de couro + inóculo	Microrganismo C	Lodo de ETE curtume + arroz
Resíduo de couro + inóculo	Microrganismo D	Lodo de ETE de curtume + arroz

4.2.1.4 Avaliação da influência da adição de meio de cultivo e variação do pH na geração de biogás com microrganismos isolados

Avaliou-se a influência do meio de cultivo líquido (ML) e do pH sobre a geração de biogás e a respectiva fração molar deste nos resíduos de arroz e couro pré-tratado quimicamente. A fração molar foi calculada conforme a Equação 8 descrita no item 4.2.5. A Tabela 7 apresenta as condições utilizadas, o ensaio foi otimizado através da utilização do planejamento experimental 2^k , com uma repetição.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Tabela 7. Variáveis consideradas no planejamento experimental para avaliação da influência do pH e meio de cultivo no processo de DA dos resíduos de arroz e couro (o autor)

Experimento	Valores Codificados		Valores Reais	
	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂
1	1	-1	9	Sem meio
2	-1	1	7	Com meio
3	-1	-1	7	Sem meio
4	-1	-1	7	Sem meio
5	1	1	9	Com meio
6	1	1	9	Com meio
7	-1	1	7	Com meio
8	1	-1	9	Sem meio

Nota: X₁ = pH, X₂ = meio de cultivo

Neste experimento, a fim de manter o teor e sólidos em 9% foram utilizados 10mL de meio de cultivo líquido (ML), 20 mL de inóculo proveniente dos microrganismos isolados do item 4.2.3.1 e 15mL de solução tampão em amostras com meio de cultivo adicionado. Em amostras sem o ML foram utilizados 20 mL de inóculo e 25 mL de solução tampão.

4.2.1.5 Isolamento de microrganismos em função da fração gerada de gás metano

Em virtude de os resultados das etapas anteriores apresentarem baixas concentrações do gás de interesse, metano, este ensaio foi realizado com o objetivo de isolar e identificar os microrganismos, em diferentes períodos do ensaio, responsáveis pela produção de biogás.

Cada amostra apresentada no Quadro 2 foi repetida 7 vezes, as amostras foram preparadas conforme descrito no item 4.2.3.1 e o isolamento realizado conforme item 4.2.3.2. O primeiro isolamento foi realizado após 24 horas do início do processo de digestão anaeróbia e, posteriormente a cada 7 dias foi realizado um isolamento de cada uma das amostras, totalizando 5 isolamentos. A análise cromatográfica foi realizada conforme a descrição no item 4.2.5.

Quadro 2. Resíduos utilizados para avaliação da fração molar do gás gerado (o autor)

Descrição
Arroz
Arroz + lodo ETE UCS
Resíduo Couro + Lodo ETE UCS
Lodo ETE UCS

Para este experimento foram realizadas análises de caracterização dos resíduos antes e depois do ensaio de DA, a Figura 3 apresenta as análises realizadas. O resíduo de couro já

foi caracterizado, entretanto suas combinações com o lodo de curtume e o lodo da UCS foram avaliados quanto ao teor de carbono orgânico e teor de sólidos totais.

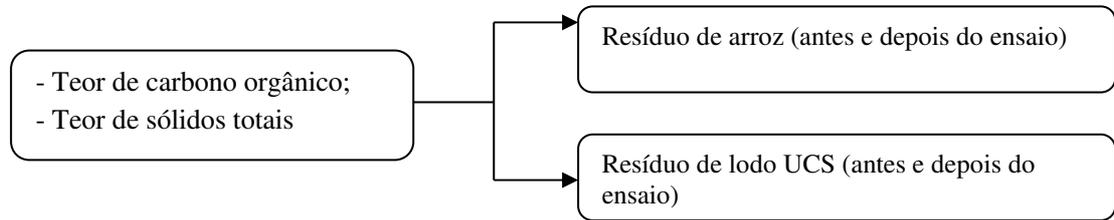


Figura 3. Análises de caracterização dos resíduos (o autor)

4.2.1.6 Avaliação da fração molar do gás gerado a partir da adição de inóculos – microrganismos isolados no item 4.2.3.5

A influência da adição do inóculo dos microrganismos isolados do lodo da ETE UCS foi avaliada quanto ao volume e fração molar do gás gerado em amostras de esterco suíno (alimentação por aveia e ração), resíduo de couro pré-tratado pelo processo químico e térmico e amostra de arroz com lodo de curtume.

O tratamento térmico do resíduo de couro consistiu em dispor o mesmo em um recipiente de vidro vedado e posteriormente colocado no interior da autoclave Primatec modelo CS, pressão de 1 atm por 15 minutos. O tratamento químico foi realizado conforme descrito anteriormente, o mesmo ocorreu antes do tratamento térmico.

O volume de inóculo ou ML foi adicionado de tal forma que o teor de sólidos final não ultrapassasse 9%. A primeira alíquota de inóculo foi adicionada após 24 horas de ensaio e, posteriormente foram realizadas 5 adições, a cada 7 dias.

Em relação as amostras de esterco, o objetivo foi testar o esterco gerado a partir de suínos com diferente alimentação e, a fração molar deste resíduo é composta predominantemente por metano.

O Quadro 3 apresenta a descrição das amostras avaliadas durante o processo de DA, variando a adição de inóculo e meio de cultivo.

Quadro 3. Composições das amostras para avaliação da fração molar e do volume de gás gerado (o autor)

Descrição
Arroz +inóculo
Arroz + meio cultivo líquido
Resíduo Couro pré-tratado + inóculo
Resíduo Couro pré-tratado + meio cultivo líquido
Esterco (Aveia) + inóculo
Esterco (Ração)+inóculo
Esterco (Ração) + meio cultivo líquido
Arroz + lodo ETE curtume + inóculo
Arroz + lodo ETE curtume + meio de cultivo líquido

Após os ensaios foram realizadas análises do teor de carbono orgânico e sólidos totais nas amostras.

4.2.1.7 Avaliação da influência da adição de meio de cultivo e variação do pH em resíduos de esterco (R)

O objetivo deste experimento foi avaliar a influência do meio de cultivo (ML) e as variações de pH sobre o volume e a fração molar do gás gerado sobre o resíduo de esterco (R). A Tabela 8 apresenta o planejamento experimental utilizado para realizar este ensaio. Os volumes adicionados foram calculados para manutenção do teor de sólidos totais em 9%. Assim foram adicionados 2,3 mL de inóculos, 2,3 mL de solução tampão e 2,3 mL de meio. Nas amostras em que o meio não foi adicionado, o volume de inóculo adicionado foi de 2,3 mL e o volume de solução tampão adicionado foi de 4,6 mL para cada.

Tabela 8. Variáveis no planejamento 2k para esterco (R) (o autor)

Experimento	Valores Codificados		Valores reais	
	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂
1	1	-1	9	Sem meio
2	-1	1	7	Com meio
3	-1	-1	7	Sem meio
4	-1	-1	7	Sem meio
5	1	1	9	Com meio
6	1	1	9	Com meio
7	-1	1	7	Com meio
8	1	-1	9	Sem meio

Nota: X₁ = pH, X₂ = meio de cultivo

4.2.2 Determinação do volume de gás produzido

A verificação do volume de gás gerado foi realizada através do método volumétrico, que consiste no deslocamento de um fluido conforme ilustrado na Figura 4.

Nos experimentos, com o auxílio de uma proveta foi possível quantificar o volume de gás gerado pela digestão anaeróbia, através do deslocamento da água. A quantidade de água acumulada na proveta é considerada como a quantidade de volume de gás gerado pela digestão anaeróbia dos resíduos contidos nos frascos.

Para avaliação do volume de gás produzido foram realizadas medições diárias enquanto constatada a geração de gás.

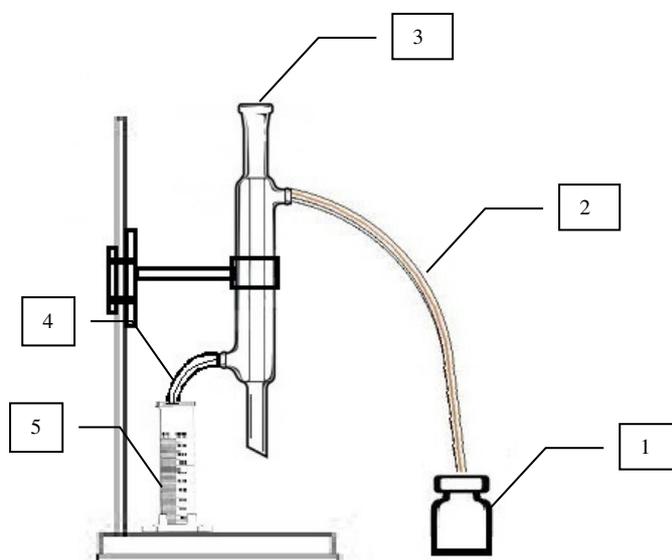


Figura 4. Esquemática do funcionamento da medição do biogás (o autor)

Nota: 1 - Amostra a ser medida

2- Mangueira 1 com agulha introduzida nos frascos contendo as amostras

3- Recipiente a ser preenchido com água

4- Mangueira 2 com ponteira para escoamento do volume de água deslocado

5- Proveta para medição do volume de gás

4.2.3 Determinação da fração molar do gás gerado

A análise da fração molar do gás gerado foi realizada no cromatógrafo da marca DaniGC, no LEBIO na Universidade de Caxias do Sul.

Para as análises foi utilizado o nitrogênio como gás de arraste em virtude dos analitos a serem avaliados (H_2 , CH_4 , CO_2), o detector usado foi TCD (Detector de Condutividade Térmica), a coluna capilar SupelcoCarboxenTM 1006 (30m x 0,53mm) e, para coleta da

4 MATERIAIS E MÉTODOS

amostra nos frascos de penicilina foi utilizada a seringa Gasthight Hamilton de 1 mL, temperatura do injetor e do detector utilizada foi de 100°C.

A concentração molar dos compostos na amostra foi determinada através da equação 5 (DIETZ, 1967; WENZEL, 2013).

$$x_j^i = \frac{(A_j^i / FR_i^{TCD})}{\sum_{k=1}^i (A_k^j / FR_k^{TCD})} \quad (5)$$

Onde:

x_j^i = fração molar do componente “i” na amostra “j”

A_j^i = área do pico referente ao composto “i” calculada a partir do cromatograma da amostra “j”

FR_i^{TCD} = fator de resposta (resposta relativa) do componente “i” para o detector TCD

k = subscrito referente a compostos “k” presentes na amostra “j”

Os fatores de resposta para análise utilizando TCD como detector são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Fatores de resposta em função do composto analisado para o detector TCD (adaptado de DIETZ (1967) e WENZEL (2013))

Composto	Fator de Resposta Térmico	MM (g/mol)
Dióxido de Carbono	48	44
Hidrogênio	107	2
Metano	35,7	16

As análises cromatográficas das amostras foram realizadas diariamente, e em duplicatas.

4.2.4 Identificação dos microrganismos isolados

A identificação dos microrganismos foi realizada no laboratório do Instituto de Ciências Básicas da Saúde na Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os microrganismos recebidos foram cultivados em ágar TSA e posteriormente submetidos a extração de DNA pelo método de fervura. O DNA obtido foi estocado a -20°C em tampão TE.

As reações de PCR foram realizadas com 1U Taq polimerase (Invitrogen), 2,5 mM MgCl₂ (Invitrogen), 0,2 mM dNTPs (Biolabs), 1 µM de cada oligonucleotídeo iniciador, tampão de reação da Taq polimerase (Invitrogen), água MilliQ estéril e 2 µL de DNA para um volume final de reação de 25 µL. O primer utilizado foi o 16S.

A PCR foi realizada em termociclador (Mastercyclerpersonal 5322 v.2.22.32 – Eppendorf) com desnaturação inicial por 2 minutos a 94°C seguida de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 49°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto e seguida de uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

Os fragmentos amplificados por PCR foram visualizados em gel de agarose 1% com TAE 1x, corado com brometo de etídeo na concentração final de 0,5 µg/mL. Para aplicar as amostras no gel de agarose foi utilizado 1 µL de tampão de amostra (azul de bromofenol 6X) para cada 5 µL de amostra aplicada. O gel foi então submetido à uma corrente elétrica de 80V por 1 hora em tampão TAE 1x. Após, o gel foi visualizado sob luz ultravioleta com o auxílio de transluminador UV.

Após a análise dos géis de agarose foi possível selecionar os fragmentos de interesse para posterior sequenciamento. Estes fragmentos foram eluídos a partir do gel de agarose utilizando o kit Invisorb® FragmentCleanUp (250) da Invitex, de acordo com as orientações do fabricante.

As alíquotas de DNA obtidas foram novamente submetidas a eletroforese e quantificadas utilizando-se o programa Kodak 1D ImageAnalysis Software (versão 3.5.2) e o marcador molecular 100 bp DNA Ladder como parâmetro de comparação para a quantificação.

Posteriormente, as amostras foram submetidas a sequenciamento automatizado (ABI-PRISM 3100 GeneticAnalyser), nas seguintes condições: deveriam ter entre 30 – 60 ng de DNA e 4,5 pMol do oligonucleotídeo iniciador.

Os dados obtidos pelo sequenciamento foram analisados no programa BioEdit e as sequências comparadas as de bancos de dados (GenBank). Devido ao fato das identificações apresentarem mais de uma espécie foi utilizado o software MEGA 6.0 para diferenciação e identificação das espécies dos microrganismos utilizados.

4.2.5 Caracterização das amostras

Os resíduos foram caracterizados antes e depois do ensaio de DA, através de ensaios de determinação de umidade, sólidos totais, Nitrogênio Kjeldahl Total (NTK), carbono orgânico e concentração de cromo nos resíduos provenientes da indústria coureira.

4.2.5.1 Determinação de umidade e sólidos totais

A determinação da porcentagem de umidade e teor de sólidos totais dos resíduos de arroz, couro e esterco suíno foi realizada com base nas normas ASTM D3790-12. Foi realizada a pesagem em duplicada, utilizando a balança analítica marca Marte, modelo AS 5500C, em placas de Petri de vidro, previamente secas em estufa e taradas, com cerca de 100g de cada amostra sólida. Estas foram dispostas em estufa a 105°C até que sua massa estivesse constante, por cerca de 8 horas. Para a realização da pesagem, as amostras foram resfriadas em dessecador por 30 minutos.

O teor de umidade foi calculado pela equação 6:

$$\text{Teor de umidade (\%)} = \frac{M_{au} - M_{as}}{M_{au} - M_{pv}} \times 100 \quad (6)$$

O Teor de sólidos totais foi calculado conforme a equação 7:

$$\text{Teor de sólidos totais (\%)} = \frac{M_{as} - M_{pv}}{M_{au} - M_{pv}} \times 100 \quad (7)$$

Onde:

M_{au} – Massa da placa de Petri contendo a amostra úmida (g);

M_{as} – Massa da placa de Petri contendo a amostra seca (g);

M_{pv} – Massa da placa de Petri vazia (g).

O teor de sólidos totais das amostras de lodo de ETE de curtume e lodo da UCS foram analisados com base na norma ABNT NBR 14550. Foram utilizadas 20g de areia tratada com ácido nítrico (65%). A areia foi disposta em um cadinho e seca na estufa a 105°C por 1 hora, depois de resfriada foram adicionados 25 mL das amostras de lodo de curtume e da UCS. Em seguida, a amostra foi disposta na estufa por 12 horas, decorrido 12 horas as amostras foram colocadas em um dessecador. Uma vez resfriadas, os cadinhos com a areia e a amostra de lodo foram dispostos em uma mufla por 2 horas a 600°C, após o resfriamento foi quantificada a massa do conjunto.

4.2.5.2 Nitrogênio Total Kjeldahl

As análises de NTK no início e no final dos ensaios para os resíduos de arroz, esterco suíno, resíduo de couro e de lodo de curtume foram realizadas conforme adaptação da norma

4 MATERIAIS E MÉTODOS

ASTM D2868-10. Esta análise consiste na digestão das amostras com utilização de ácido sulfúrico concentrado e, posterior destilação e titulação utilizando ácido clorídrico 0,1M.

4.2.5.3 Quantificação de cromo

As análises para quantificação do cromo foram realizadas pelos métodos 3030H e 3111B, dos Métodos Padronizados para Análise de Água e Águas Residuais (Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 2012). Esta metodologia consiste na digestão ácida com utilização de ácido nítrico e posterior análise por absorção atômica.

4.2.5.4 Carbono orgânico

Esta análise é realizada por meio de oxidação do carbono da amostra em meio ácido. Em seguida procede-se com a titulação com sulfato de ferro. A metodologia adotada foi baseada em Walkley-Black (1934).

4.2.6 Cálculo da concentração de carbono orgânico, nitrogênio e cromo das amostras

A concentração de carbono orgânico, nitrogênio para as amostras de arroz, resíduo de couro, lodo de estação de tratamento de efluentes e esterco suíno foi determinada para fins comparativos entre o início e o final do ensaio de digestão. A Equação 8 demonstra o método utilizado para o cálculo das concentrações.

$$C_{e,a} = \frac{(C_{e,a1} \times m_{a1}) + (C_{e,a2} \times m_{a2})}{m_t} \quad (8)$$

Onde:

$C_{e,a1}$ = Concentração do elemento (Carbono, Nitrogênio e Cromo) no substrato

$m_{a,1}$ = Massa do substrato (g)

$C_{e,a}$ = Concentração do elemento (Carbono, Nitrogênio e Cromo) no inóculo

$m_{a,2}$ = Massa do resíduo inóculo (g)

m_t = Massa do total da amostra (g)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS RESÍDUOS

Neste item serão apresentados os resultados de caracterização dos resíduos utilizados no processo de digestão anaeróbia.

5.1.1 Teor de carbono, nitrogênio, cromo, sólidos totais e umidade nas amostras

A Tabela 10 apresenta os resultados das concentrações de carbono orgânico, nitrogênio total, teor de cromo, teor de sólidos e teor de umidade nos resíduos utilizados durante os ensaios em base seca.

Tabela 10. Teor de carbono orgânico, nitrogênio, sólidos, umidade e cromo nos resíduos (o autor)

	Teor de Carbono (%)	Teor de Nitrogênio (%)	Teor de Cromo (%)	Teor de Sólidos Totais (%)	Teor de Umidade (%)
Resíduo de Arroz	42,79	0,89	-	55,07	44,93
Resíduo de Couro	35,49	13,00	2,39	46,76	53,24
Esterco Suíno (A)	41,16	2,41	-	26,07	73,03
Lodo de ETE de curtume	27,90	1,23	4,21	11,25	-
Lodo de ETE UCS	32,14	-	-	26,80	-
Esterco (R)	26,05	-	-	22,07	-

Em relação aos resultados apresentados na Tabela 10 para o resíduo de arroz, o teor de carbono e nitrogênio apresentam diferenças quando comparados com os teores encontrados no arroz caracterizado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA (2009). Conforme esta caracterização o arroz parboilizado apresentou 2,1% de proteínas, ou seja, 0,35% de nitrogênio e 23,30% de carboidratos. Essa diferença pode ser justificada pela diferença de cultivo do cereal e pelo processo de parboilização do arroz, outro fator relevante é que o cereal utilizado neste trabalho foi utilizado para o cultivo de fungos, podendo haver resquícios de massa celular no arroz e, conseqüentemente aumentando o teor de carbono e nitrogênio.

Os valores para os teores de carbono, nitrogênio, teor de sólidos e umidade, do resíduo de couro, analisados neste trabalho estão próximos ao encontrado na literatura. Agustí *et al.* (2015) obteve como resultado o teor de carbono de 39,87%, teor de nitrogênio 11,12%. Dhayalan *et al.* (2007) determinaram o teor de carbono de 34,54% e teor de

nitrogênio de 22%. Piccin *et al.* (2012) obteve como resultado para o teor de carbono 37,10% e teor de cromo 2,50%. Zupančič *et al.* (2010) teor de nitrogênio 12,00% e teor de sólidos 6,60%. Kipper (2013) obteve o teor de nitrogênio de 8,90%.

A maior diferença, em torno de 4%, foi obtida nas análises de Agustí *et al.* (2015) para o teor de carbono. Assim como o carbono, o teor de cromo está de acordo com a literatura. O teor de nitrogênio apresentou maior diferença, no trabalho de Dhayalan e colaboradores (2007) a diferença foi de 9%.

Os valores encontrados para o esterco suíno pelos autores como Quian *et al.* (2013) foi de 42,20% para o teor de carbono e 3,17% para o teor de nitrogênio. Messuk *et al.* (2013) obtiveram para o teor de carbono 50,90% e teor de nitrogênio 5,20%. Hidalgo *et al.* (2014) 34,50% para o teor de carbono, 2,80% para o teor de nitrogênio e 62,70% para teor de sólidos totais. Kafle *et al.* (2013) tiveram como resultado 0,16% para nitrogênio e 2,95% para o teor de sólidos. Para o esterco suíno cujo a alimentação do animal foi por ração verifica-se que o teor de carbono orgânico e o teor de sólidos foram menores em comparação com o esterco suíno com a alimentação do animal por aveia, destaca-se que as diferentes alimentações. As diferenças apresentadas podem ser justificadas pela alimentação, uma vez que a literatura não aborda o tipo de alimentação do animal.

O lodo de ETE de curtume quando analisado por Haroun *et al.* (2009) apresentou teor de carbono de 20,07%, o NTK de 0,99%. Zupancic e colaboradores (2010) encontraram aproximadamente 1,5% para o teor de nitrogênio no lodo e 6,6% no teor de sólidos totais. Kiliç *et al.* (2011) obteve para o lodo de curtume um teor de carbono de 76,40%, para o teor de nitrogênio 5,51% e para o teor de cromo 8,04%. Thangamani & Ramanuham (2010) encontraram teor de sólidos de 6,98% no lodo de curtume utilizado nas suas análises. As diferentes concentrações dos parâmetros avaliados podem ser atribuídas aos diferentes tipos de produtos químicos e suas respectivas concentrações utilizados durante o tratamento de efluentes na indústria coureira.

Arhoun *et al.* (2013) encontraram para o lodo de ETE municipal 32% de teor de carbono e 1,97% de teor de sólidos totais, o teor de carbono encontrado por estes autores está próximo ao encontrado no lodo utilizado neste estudo. Kaloum *et al.* (2011) encontraram um teor de sólidos de 7,98% no lodo de ETE municipal utilizado nos experimentos. Kuglarz *et al.* (2013) encontraram um teor de sólidos par ao lodo de ETE utilizado de 5,27%. A diferença no teor de sólidos encontrada na literatura pode ser justificada pela diferença de composição do lodo da UCS frente aos lodos municipais utilizados pelos pesquisadores.

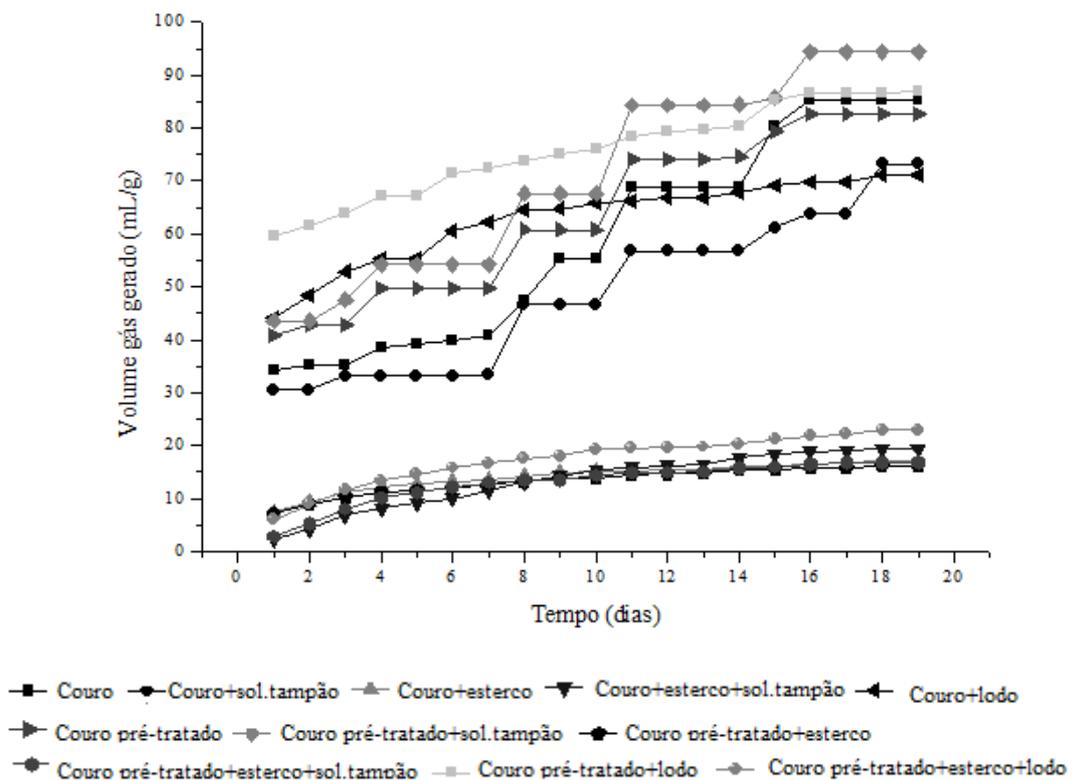
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2 ENSAIOS DE DIGESTÃO ANAERÓBIA

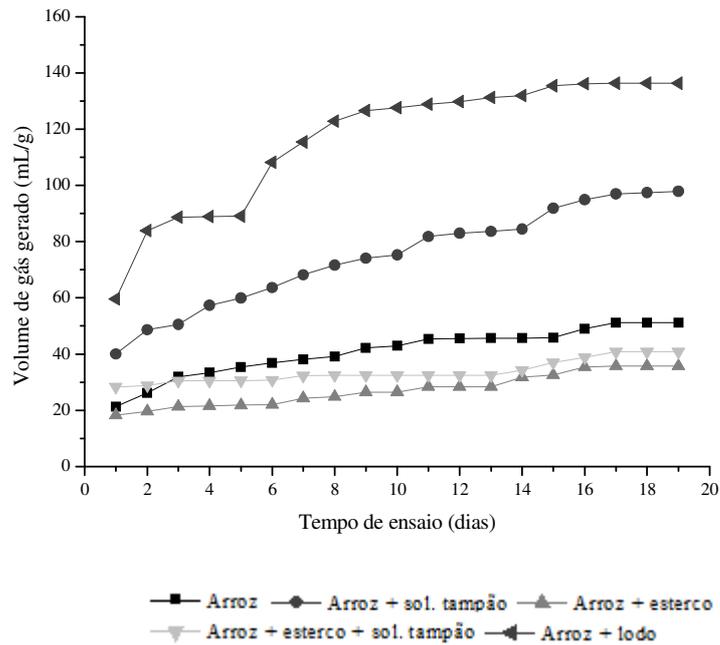
Neste item serão apresentados os resultados do processo de digestão anaeróbia dos resíduos quanto ao volume e a fração molar do gás gerado.

5.2.1 Produção de biogás por diferentes combinações de arroz, resíduo de couro, esterco suíno e lodo de ETE de curtume

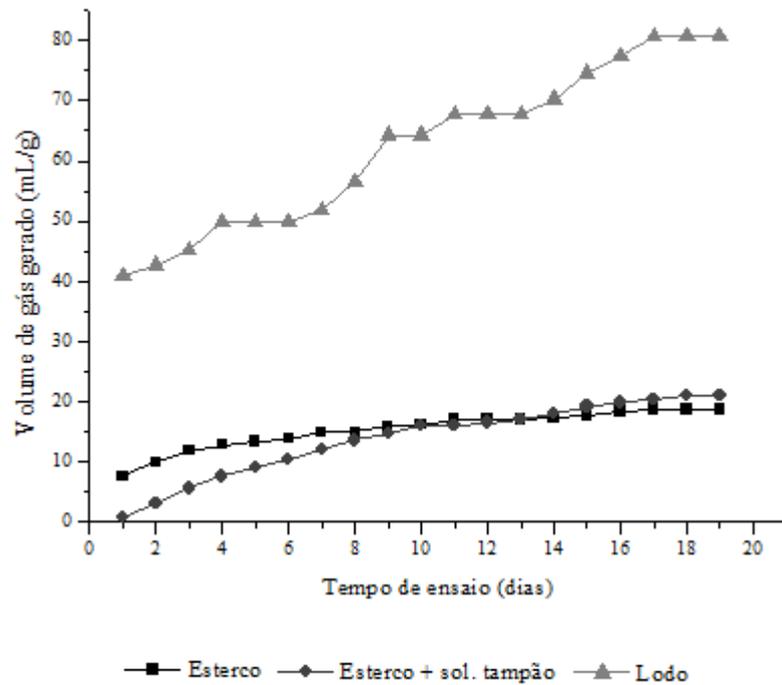
A Figura 5 apresenta o volume de biogás gerado para cada resíduo e suas combinações.



A) Resíduo de couro



B) Resíduo de arroz



C) Esterco suíno e lodo de ETE de curtume

Figura 5. Volume de biogás gerado pelos resíduos de arroz, resíduo de couro, resíduo de esterco suíno e suas combinações (o autor)

Verifica-se, a partir da Figura 5, que as amostras que apresentaram a solução tampão tiveram um maior acúmulo de gás gerado durante o ensaio quando comparada as mesmas amostras sem a adição desta solução. Enfatizando a importância da presença de solução tampão para estabilidade do consórcio microbiano, uma vez que a tendência durante o processo de DA é a redução do pH, pois há formação de ácidos. Estes resultados estão de acordo com os trabalhos de Tawfic *et al.* (2013), Figueiredo (2010) e Raposo *et al.* (2011) que enfatizam a importância do controle do pH durante o processo de DA com vistas à produção de biogás. De acordo com estes autores, o controle de pH eficiente durante o ensaio apresenta resultados satisfatórios quanto a geração de biogás.

Por outro lado, verificou-se que a amostra de esterco suíno teve a menor geração de gás durante o ensaio. Este resultado pode ser justificado porque o esterco suíno tem a característica tamponante num ensaio de DA, sendo este um resíduo que confere a propriedade de melhorar a relação C/N. O esterco utilizado neste ensaio tinha relação C/N 17,41, levemente abaixo do recomendado na literatura, é possível inferir que com razão C/N maior, a geração de biogás poderia ser favorecida.

Moset *et al.* (2014) citaram que o esterco animal tem altas concentrações de amônia e altos teores de ácidos graxos voláteis, estes podem inibir o processo de DA. Riaño *et al.* (2011) relataram aumentos consideráveis na produção de biogás com a adição de resíduos agrícolas ricos em teor de carbono para o processo de co-digestão com esterco suíno. Os autores encontraram que a razão C: N de 20/1 foi mais promissora em termos de produtividade de biogás no processo anaeróbio de co-digestão entre as amostras avaliadas.

As amostras contendo resíduo de couro apresentaram volume de biogás gerado menor que as amostras contendo resíduo de arroz. O resíduo de couro pré-tratado quimicamente apresentou maior volume de biogás gerado quando comparado ao mesmo resíduo sem pré-tratamento, este resultado está em concordância com Dhayalan *et al.* (2007), que verificaram que os resíduos pré-tratados apresentaram maiores produções em relação a produção de biogás. Entretanto, de acordo com Zhang *et al.* (2014) e Shah *et al.* (2015) para melhores resultados quanto a geração de biogás a combinação de pré-tratamentos é requerida, por exemplo o pré-tratamento químico combinado com o pré-tratamento térmico, uma vez que o pré-tratamento auxilia no processo de decomposição química do substrato, tornando-o disponível para a ação dos microrganismos.

Observa-se que o substrato (arroz) na presença do lodo de curtume apresentou o maior volume de gás gerado acumulado em comparação às outras amostras. Provavelmente,

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

devido a concentração ideal de sólidos totais e a presença de microrganismos no lodo de curtume capazes de gerar biogás.

5.2.1.1 Concentração de carbono orgânico, nitrogênio total das amostras

As concentrações de carbono orgânico e nitrogênio calculadas de acordo com a equação 7, nas amostras antes e depois do ensaio de DA, bem como a redução destes teores são apresentadas na Tabela 11. Destaca-se que para as amostras que apresentam a solução tampão, foi considerada a mesma concentração da amostra sem esta solução devido a não interferência na composição dos resíduos.

Tabela 11. Concentrações iniciais e finais de carbono orgânico e nitrogênio total e redução após o ensaio de DA (o autor)

Amostras	Carbono Orgânico			Nitrogênio Total		
	Concentração Inicial (%)	Concentração Final (%)	Redução (%)	Concentração Inicial (%)	Concentração Final (%)	Redução (%)
Arroz	40,74	42,79	-	0,89	0,82	7,86
Esterco suíno	41,16	42,37	-	2,41	1,68	30,29
Arroz + esterco suíno	40,95	42,08	-	1,65	1,51	8,48
Arroz + tampão	40,74	37,81	7,19	0,89	1,24	-
Esterco suíno + tampão	41,16	42,07	-	2,41	1,37	43,15
Arroz + esterco + tampão	40,95	40,29	1,61	1,65	- ¹	-
Arroz + lodo de curtume	37,83	24,66	34,81	1,00	- ¹	-
Lodo de curtume	27,90	12,92	53,70	1,23	1,19	3,25
Couro	35,49	34,26	3,47	13,00	14,35	-
Couro + tampão	35,49	33,84	4,65	13,00	13,98	-
Couro + esterco suíno	40,89	40,48	1,00	2,91	2,93	-
Couro+ esterco + tampão	40,89	39,64	3,06	2,91	3,13	-
Couro + lodo de curtume	32,28	31,98	0,93	8,02	11,74	-
Couro pré-tratado	34,12	34,74	-	12,50	14,32	-
Couro pré-tratado + tampão	34,12	31,97	6,30	12,50	13,81	-
Couro pré-tratado + esterco	40,89	40,48	1,00	2,91	2,44	16,15
Couro pré-tratado+ esterco + tampão	40,81	38,47	5,73	2,91	3,41	-
Couro pré-tratado + lodo curtume	32,28	25,36	21,44	8,02	9,29	-

Nota: ¹ Indisponibilidade da amostra

Observa-se, a partir da Tabela 11, a diminuição na concentração de carbono orgânico nas amostras que contem lodo de curtume e, em amostra que contém solução tampão,

amostras de arroz com solução tampão, arroz com esterco e solução tampão, arroz com lodo de ETE de curtume e lodo de ETE de curtume.

As amostras que apresentaram em sua composição o lodo de ETE de curtume apresentaram maior redução no teor de carbono do que as amostras sem a adição do lodo. Comparando o resultado da amostra que contém a solução tampão com a amostra que contém em sua composição o lodo de curtume, a última apresentou maior redução neste teor de carbono. A solução tampão conforme Tawfic *et al.* (2009) é de extrema relevância para um processo eficaz de DA e consequente geração de biogás.

A redução do teor de carbono orgânico está vinculada a DA. Na realização das suas análises, Haroun *et al.* (2009) verificaram a redução do teor deste parâmetro no lodo de curtume em aproximadamente 25%.

As amostras que continham esterco suíno tiveram redução não considerável de carbono orgânico, indicando que sua adição ao resíduo de arroz não propiciou melhoria no processo de DA, em concordância com o volume de gás gerado, uma vez que este resíduo tem característica tamponante no processo de DA.

Assim como a redução do carbono orgânico, a redução do teor de nitrogênio na amostra está associada ao processo de biodigestão, observa-se a diminuição na concentração de nitrogênio nas amostras arroz, esterco suíno, arroz e esterco suíno, esterco e solução tampão, lodo de ETE de curtume e resíduo de couro pré-tratado com esterco suíno. Destaca-se que a amostra de esterco suíno adicionada da solução tampão apresentou maior redução neste teor, resultado que enfatiza a importância do controle do pH durante o ensaio de digestão anaeróbia.

Os resíduos de couro e suas combinações apresentaram maior redução no teor de carbono nas amostras com a adição de solução tampão. A maior redução foi na amostra de couro pré-tratado com adição do lodo de ETE de curtume (21,44%) em comparação com o couro sem pré-tratamento com adição do lodo de ETE de curtume (0,93%). Esse resultado corrobora com Dhayalan *et al.* (2007), Zhang *et al.* (2014) e Shah *et al.* (2015) que enfatizam a importância do pré-tratamento para o processo de DA, refletindo consequentemente na produção de biogás.

O lodo de ETE de curtume apresentou maior redução do teor de carbono orgânico (53,70%) quando comparado as outras amostras, isso pode ser justificado pela presença de microrganismos nessa amostra que podem ter acelerado a etapa da hidrólise, da digestão anaeróbia, entretanto a falta de nutrientes para melhor ajustar a relação carbono/nitrogênio e a

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

falta de outros microrganismos para converter o ácido produzido pelas bactérias acidogêneses em biogás podem ser a justificativa para amostra não ter gerado maior volume de biogás.

A Tabela 12 apresenta a concentração de cromo nas amostras que apresentavam em sua composição resíduos da indústria coureira antes e após os ensaios de DA, bem como o aumento percentual deste parâmetro.

Tabela 12. Concentrações iniciais e finais de cromo nas amostras (o autor)

Amostras	Concentração de Cromo		
	Concentração Inicial (%)	Concentração Final (%)	Aumento (%)
Couro	2,39	2,88	20,60
Couro + tampão	2,39	3,01	25,92
Couro pré-tratado	2,30	2,86	24,13
Couro + esterco	0,11	0,13	17,54
Couro + esterco + tampão	0,11	0,15	27,19
Couro + lodo	3,16	2,81	-
Couro pré-tratado + tampão	2,30	2,43	5,83
Couro pré-tratado + lodo	3,16	3,38	7,02
Couro pré-tratado + esterco	0,11	0,14	18,42
Couro pré-tratado+ esterco + tampão	0,11	0,13	17,42

O aumento da concentração de cromo após o ensaio, indica a eficácia do processo de DA das amostras, já que a perda de massa orgânica provoca um aumento da concentração. A partir da Tabela 12, verifica-se que a amostra de couro com esterco suíno e solução tampão apresentou maior aumento do teor de cromo (27,19%) o que pode ser justificado pelo balanceamento de nutrientes necessários para o processo de digestão anaeróbia e pela adição de solução tampão com pH neutro (7,2) que auxiliou o processo. As amostras de couro, sem pré-tratamento e com adição de solução tampão apresentaram aumento no teor de cromo em relação as amostras sem a adição de solução tampão, enfatizando a importância do controle do pH no processo de digestão anaeróbia.

5.2.2 Influência da adição de inóculos contendo os microrganismos isolados a partir das combinações com maior produção de biogás

A Tabela 13 apresenta a identificação dos microrganismos isolados e a combinação a partir da qual foram isolados.

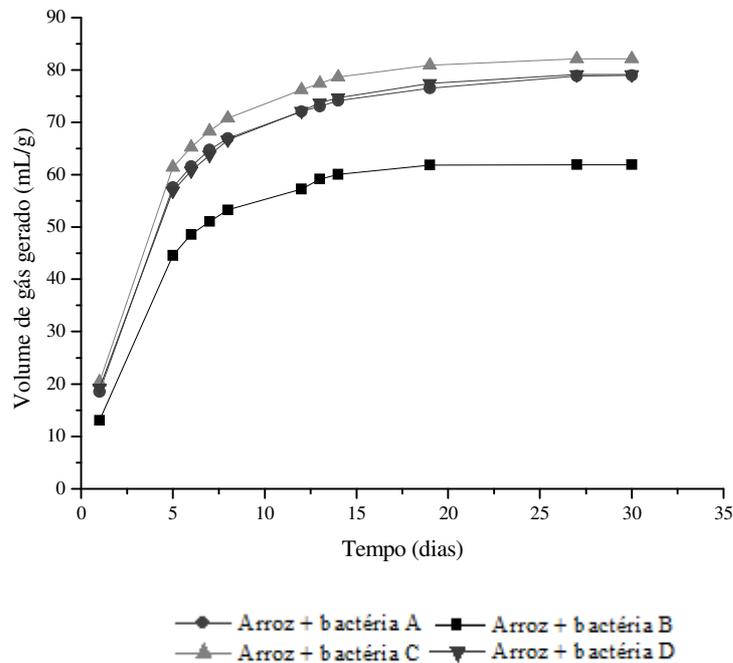
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 13. Identificação dos microrganismos isolados (o autor)

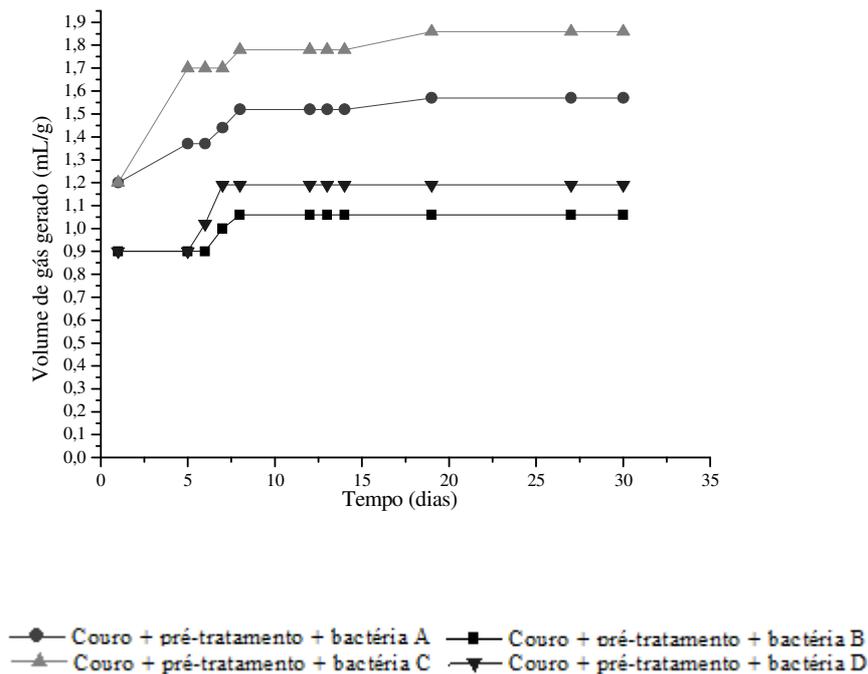
Inóculo	Origem microrganismo isolado	Identificação
Microrganismo A	Lodo de ETE curtume + couro	<i>Bacillus pumilus</i> strain CIP 52.67
Microrganismo B	Solução tampão + arroz	<i>Exiguobacterium profundum</i> strain 10C
Microrganismo C	Lodo de ETE curtume + arroz	<i>Staphylococcus warneri</i> strain SG1
Microrganismo D	Lodo de ETE de curtume + arroz	<i>Exiguobacterium profundum</i> strain 10C

Nota ¹: Não foi possível pelas técnicas de extração utilizadas identificar o microrganismo

A avaliação da influência da adição de inóculos dos microrganismos isolados das amostras que geraram o maior volume de biogás no experimento anterior, pode ser visualizado na Figura 6.



A) Arroz



B) Couro

Figura 6. Avaliação do volume de biogás gerado com adição de inóculos sobre os resíduos de arroz e couro (o autor)

A partir da Figura 6 é possível verificar que as amostras de arroz apresentaram maior volume de gás gerado em comparação com as amostras de couro pré-tratado quimicamente, corroborando com os resultados do item 5.2.1.

De acordo com Mata-Alvarez *et al.* (2014) o resíduo de couro pode apresentar elevado teor de nitrogênio e/ou longas cadeias de ácidos graxos que podem inibir a atividade metanogênica. Ainda a relação C/N do resíduo de couro é baixa, em torno de 3. O menor volume de gás gerado pelo resíduo de couro pode ser justificado pelo processo de curtimento, o qual certamente dificulta o processo de DA. O volume total de biogás gerado a partir dos resíduos de couro neste ensaio foi menor que o observado no ensaio anterior, isto pode ser atribuído ao pré-tratamento, pois neste ensaio os resíduos não foram pré-tratados. A expectativa era que os resíduos pudessem ser degradados pelos microrganismos adicionados.

As bactérias A e C adicionadas ao arroz e ao resíduo de couro apresentaram os resultados mais promissores quanto a geração de gás em comparação com as outras bactérias isoladas, devido a este resultado estas foram utilizadas no experimento seguinte conforme descrito no item 4.2.3.4. Para todos os ensaios utilizando resíduo de arroz, observou-se que o volume de biogás gerado foi maior em relação ao ensaio anterior, onde não foram usados microrganismos isolados.

Em relação à identificação das bactérias destaca-se que a bactéria *Exiguobacterium profundum* é anaeróbia facultativa, tolerante a halogênios, moderadamente termofílica, segundo Crapart *et al.* (2007). Os autores verificaram que as células da *Exiguobacterium* cresceram a 45°C, pH 7,0 e com concentração de 0 a 2% de cloreto de sódio. Kulshreshtha *et al.* (2010) isolaram bactérias pertencentes ao gênero *Exiguobacterium*, a partir de lodo de águas residuais de uma indústria de bebidas e, verificaram que estas são capazes de neutralizar águas residuais alcalinas por produção de ácido carboxílico. O isolado ainda foi capaz de hidrolisar amido, através da enzima catalase. Os autores citam que em condições anaeróbias e com a glicose presente como substrato há produção de acetato, dependendo das condições do processo.

Van Kampen *et al.* (2001) verificaram que a bactéria *Staphylococcus warneri* 863 produz a enzima lipase e, esta enzima tem similaridade com as outras lipases da *Staphylococcus*. Daoud *et al.* (2013) isolaram *Staphylococcus* sp. e avaliaram através de condições de cultivo melhoradas a produção de lipases. Os autores verificaram uma alta estabilidade e tolerância para enzima produzida quanto a concentrações de sais e solventes orgânicos.

Cho *et al.* (2015) isolaram a bactéria *Bacillus pumilus* a partir da digestão de resíduos sólidos municipais (substrato) e algas (inóculo). As bactérias *Bacillus pumilus* foram relacionadas com as temperaturas de funcionamento do digestor. Segundo os autores o gênero *Bacillus* sp pode sobreviver a uma faixa de temperatura que pode variar de 30 a 60°C. Bactérias deste gênero podem produzir proteases e celulasas, que promovem a acidogênese no processo de DA. Os autores verificaram que esta bactéria contribuiu para melhorar a hidrólise e aumentar a produção de ácidos graxos voláteis, em temperatura termófilas.

O isolamento e aplicação destes microrganismos proporcionaram maior volume de biogás gerado e, pode ser justificado pela presença de amido (arroz) e proteínas e lipídeos (couro e lodo de ETE de curtume).

5.2.3 Influência da adição do meio de cultivo e variação do pH sobre a geração de biogás pelos microrganismos isolados

Com a análise de variância é possível avaliar as influências do meio de cultivo e do pH na geração de biogás do resíduo de arroz e couro. A Tabela 14 apresenta o volume de biogás gerado pela bactéria A adicionada no resíduo de arroz, variando o pH e o meio de cultivo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 14. Volume acumulado de biogás gerado pela bactéria A adicionada ao resíduo de arroz (o autor)

Experimento	Valores Codificados		Valores reais		Volume de biogás gerado (mL/g)
	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂	
1	1	-1	9	Sem meio	70,70
2	-1	1	7	Com meio	44,34
3	-1	-1	7	Sem meio	55,02
4	-1	-1	7	Sem meio	70,14
5	1	1	9	Com meio	77,72
6	1	1	9	Com meio	58,86
7	-1	1	7	Com meio	48,98
8	1	-1	9	Sem meio	53,72

Nota: X₁ = pH, X₂ = meio de cultivo

A Tabela 15 apresenta os resultados da análise de variância para adição de meio de cultivo e variação do pH para o resíduo de arroz com adição da bactéria A.

Tabela 15. Análise de variância para identificar os fatores significativos para geração de biogás (o autor)

	Soma quadrados	GDL	Média dos quadrados	F	p
pH	225,99	1	225,99	2,02	0,23
Meio de cultivo	48,41	1	48,41	0,43	0,55
pH e Meio de cultura	242,00	1	242,00	2,17	0,22
Erro	447,08	4	111,77		
Total	963,49	7			

Para análise de variância foi utilizado um intervalo de confiança de 90%. Dessa maneira valores de p menores que 0,10 foram considerados significativos, ou seja, possuem efeito significativo sobre a variável resposta. Nenhum dos fatores avaliados, apresentados na Tabela 15, foi significativo para o volume de gás gerado quando a bactéria A foi adicionada no substrato resíduo de arroz.

A Tabela 16 apresenta o volume de gás gerado variando o pH e a adição de meio de cultivo líquido para o resíduo de arroz com adição da bactéria C.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 16. Volume acumulado de biogás pela bactéria C adicionada ao resíduo de arroz (o autor)

Experimento	Valores Codificados		Valores reais		Volume de biogás gerado (mL/g)
	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂	
1	1	-1	9	Sem meio	54,58
2	-1	1	7	Com meio	50,00
3	-1	-1	7	Sem meio	51,34
4	-1	-1	7	Sem meio	54,80
5	1	1	9	Com meio	44,98
6	1	1	9	Com meio	46,02
7	-1	1	7	Com meio	63,72
8	1	-1	9	Sem meio	53,98

Nota: X₁ = pH, X₂ = meio de cultivo

A análise de variância para verificar os fatores significativos para geração de biogás no resíduo de arroz com a adição da bactéria C é apresentada na Tabela 17.

Tabela 17. Análise de Variância para o pH e o meio de cultivo no arroz e adição bactéria C (o autor)

	Soma quadrados	GDL	Média dos quadrados	F	p
pH	50,10	1	50,10	1,98	0,23
Meio de cultivo	13,16	1	13,16	0,52	0,51
pH e Meio de cultura	80,77	1	80,77	3,20	0,15
Erro	101,03	4	25,26		
Total	245,06	7			

Nenhum dos fatores foi significativo conforme os resultados da Tabela 17 considerando o intervalo de confiança de 90%. Portanto, o pH e o meio não influenciaram no volume de gás produzido adicionando a bactéria C ao resíduo de arroz.

Logo, para o resíduo de arroz com adição das bactérias A e C o pH e o meio de cultivo líquido adicionados nas amostras não influenciaram o volume de biogás gerado no processo de digestão anaeróbia.

Avaliou-se a influência do meio de cultivo e do pH para o resíduo de couro, a Tabela 18 apresenta o volume acumulado de biogás gerado pela bactéria C adicionada ao resíduo de couro.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 18. Volume acumulado de biogás gerado pela bactéria C adicionada ao resíduo de couro (o autor)

Experimento	Valores Codificados		Valores reais		Volume de biogás gerado (mL/g)
	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂	
1	1	-1	9	Sem meio	1,52
2	-1	1	7	Com meio	4,08
3	-1	-1	7	Sem meio	0,94
4	-1	-1	7	Sem meio	0,46
5	1	1	9	Com meio	7,78
6	1	1	9	Com meio	1,80
7	-1	1	7	Com meio	3,02
8	1	-1	9	Sem meio	1,50

Nota: X₁ = pH, X₂ = meio de cultivo

A Tabela 19 apresenta a análise de variância para verificar a significância dos fatores avaliados (pH e meio) no resíduo de couro com adição da bactéria C.

Tabela 19. Análise de Variância para o pH e o meio de cultivo no volume de biogás gerado a partir do couro e adição bactéria C (o autor)

	Soma quadrados	GDL	Média dos quadrados	F	p
pH	2,10	1	2,10	0,45	0,54
Meio de cultivo	18,79	1	18,79	4,05	0,11
pH e Meio de cultura	0,09	1	0,09	0,02	0,89
Erro	18,56	4	4,64		
Total Soma Quadrados	39,54	7			

A partir dos resultados da Tabela 19, observa-se que nenhum dos fatores investigados foi significativo, pois $p > 0,10$.

A Tabela 20 apresenta o volume acumulado de biogás gerado pela bactéria A adicionada ao resíduo de couro com variação do pH e adição do meio de cultivo líquido.

Tabela 20. Volume de biogás gerado pela bactéria A adicionada ao resíduo de couro (o autor)

Experimento	Valores Codificados		Valores reais		Volume de biogás gerado (mL/g)
	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂	
1	1	-1	9	Sem meio	0,92
2	-1	1	7	Com meio	5,82
3	-1	-1	7	Sem meio	0,82
4	-1	-1	7	Sem meio	0,74
5	1	1	9	Com meio	2,86
6	1	1	9	Com meio	2,54
7	-1	1	7	Com meio	2,16
8	1	-1	9	Sem meio	1,28

Nota: X₁ = pH, X₂ = meio de cultivo

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se a partir da Tabela 20 que os maiores volumes de biogás foram gerados pelas combinações contendo meio de cultivo líquido. Os fatores significativos foram identificados através da análise de variância apresentada na Tabela 21.

Tabela 21. Análise de Variância para o pH e o meio de cultivo no resíduo de couro e adição bactéria A (o autor)

	Soma quadrados	GDL	Média dos quadrados	F	p
pH	0,47	1	0,47	0,28	0,63
Meio de cultivo	11,57	1	11,57	6,79	0,06
pH e Meio de cultura	1,30	1	1,30	0,76	0,43
Erro	6,82	4	1,70		
Total	20,15	7			

A partir da Tabela 21 verifica-se que o meio de cultivo é significativo para o volume de gás acumulado gerado a partir da adição da bactéria A (*Bacillus pumilus strain CIP 52.67*) ao resíduo de couro. A Figura 7 apresenta o gráfico de dois fatores, a partir da qual é possível identificar que a adição do meio de cultivo aumenta a produção de biogás.

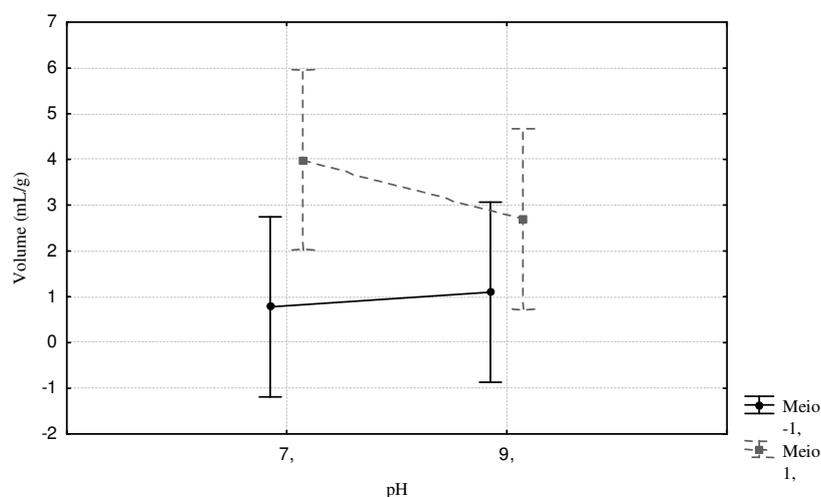
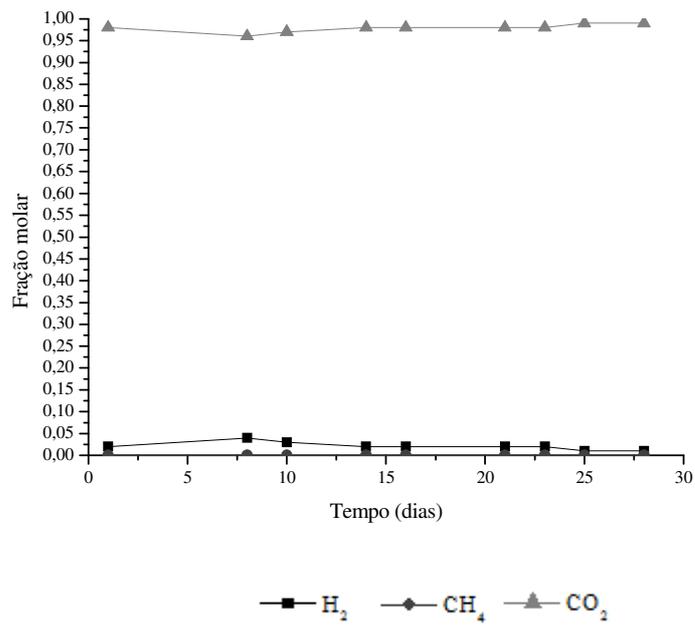


Figura 7. Gráfico de dois fatores para volume de biogás gerado a partir do resíduo de couro com adição da bactéria A (o autor)

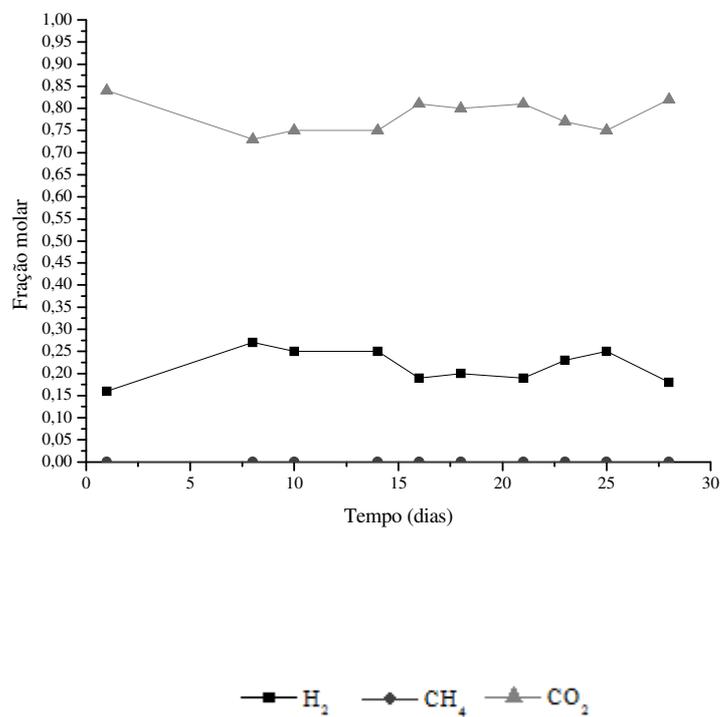
A partir da Figura 7 verifica-se que o volume de gás aumenta em pH 7,0 com adição de meio.

A Figura 8 apresenta a fração molar dos gases gerados a partir dos resíduos de arroz e couro com adição da solução tampão, meio de cultivo e inóculos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO



A) Arroz, sem meio, Bactéria A, pH 7,0



B) Couro, sem meio, Bactéria C, pH 9,0

Figura 8. Fração molar do gás gerado a partir dos resíduos de arroz e couro (o autor)

Observa-se, a partir da Figura 8, que as amostras apresentam em sua composição uma fração molar maior de CO₂, este componente reduz o poder de queima do biogás e consequente utilização como energia. Entre as duas amostras, aquela que continha resíduos de couro cromado apresentou fração de hidrogênio em torno de 25%. Neste ensaio não houve produção de metano possivelmente explicada pela ausência de microrganismos metanogênicos (ABBASI *et al.*, 2012).

Conforme Chuang *et al.* (2011), a maioria das avaliações quanto a produção de hidrogênio acontece em condições termófilas, devido a melhor condição para hidrólise. Entretanto os ensaios ocorreram a 35°C (mesófila) significando uma melhoria no processo, pois o custo de operação é elevado para que o ensaio ocorra entre 55 e 60°C.

5.2.4 Avaliação da produção de biogás por diferentes combinações de arroz, resíduo de couro, esterco suíno e lodo de ETE UCS

A Figura 9 apresenta o volume acumulado de biogás a partir de diferentes combinações de resíduos.

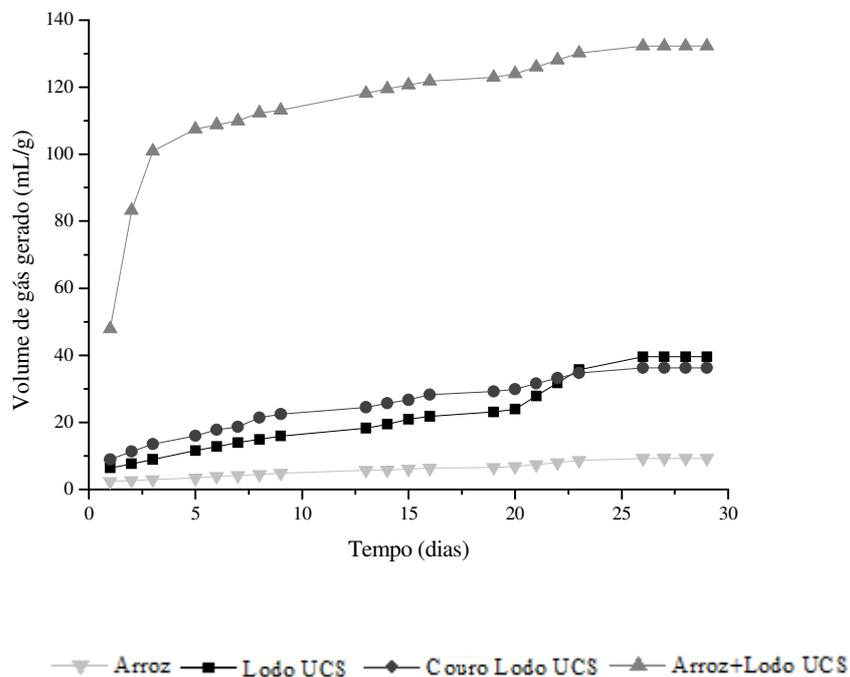


Figura 9. Volume acumulado de biogás a partir de lodo da ETE da UCS e outros resíduos

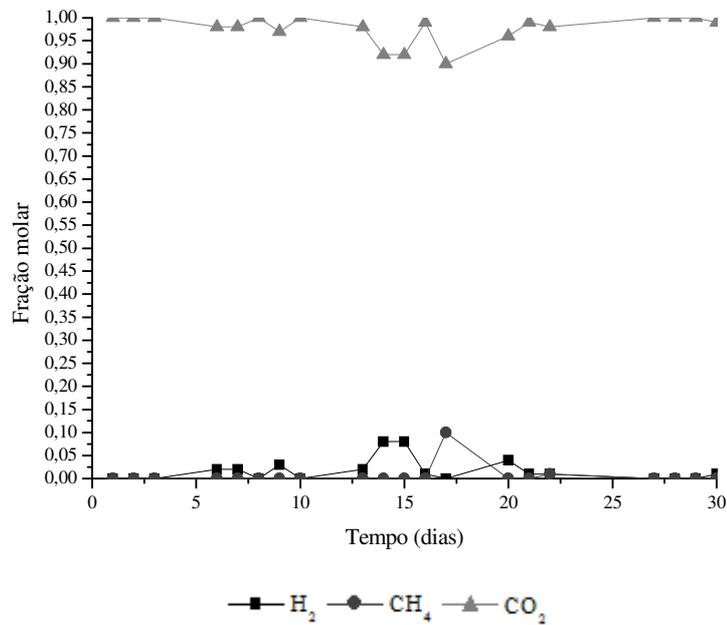
A partir da Figura 9 é possível identificar que a amostra de arroz com a adição do lodo da UCS apresentou o maior volume de gás gerado, esse resultado pode ser justificado

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

pela presença de microrganismos no lodo que auxiliaram no processo de DA. Avaliando as amostras de arroz, a amostra de arroz sem adição de lodo apresentou menor volume quando comparada as amostras com adição de lodo, reiterando a importância da combinação de resíduos visando equilibrar a relação C/N, proporcionando uma maior produção de gás gerado.

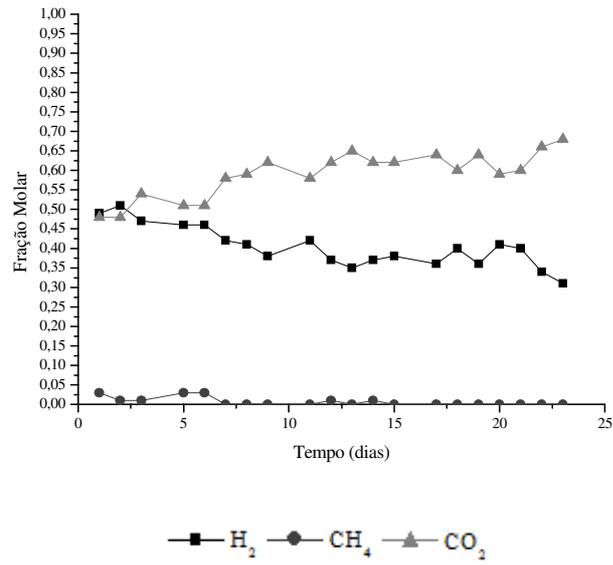
As amostras de arroz com o lodo adicionado apresentaram maior volume de gás gerado em relação as amostras de couro com os lodos adicionados.

Para avaliação da fração molar foi realizada a cromatografia gasosa do gás gerado pelo processo de DA, a Figura 10 apresenta as frações molares obtidas a partir das amostras avaliadas.

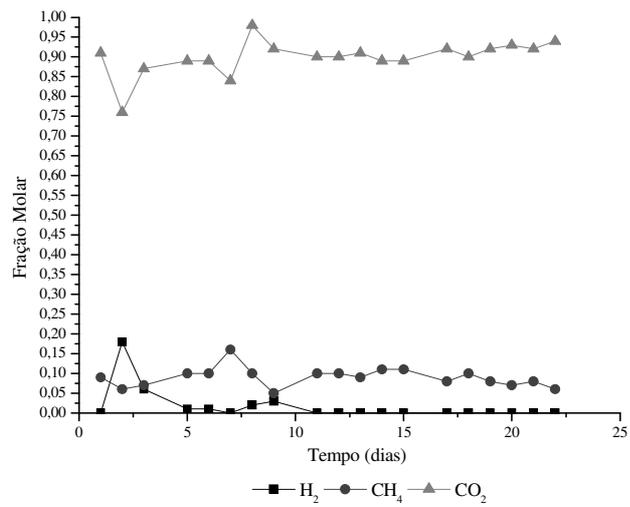


A) Arroz

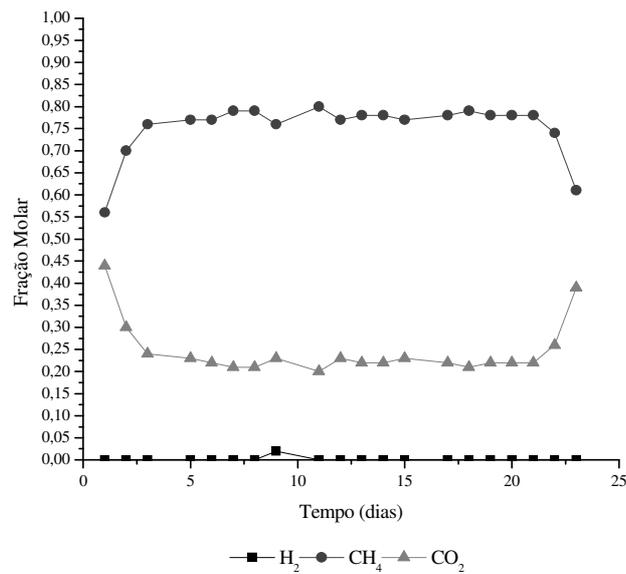
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO



B) Arroz+ Lodo de ETE UCS



C) Couro + Lodo de ETE UCS



D) Lodo de ETE UCS

Figura 10. Fração molar do biogás produzido pelas amostras durante o processo de digestão anaeróbia (o autor)

A partir da Figura 10 verifica-se que a fração molar predominante nos resíduos de arroz e suas combinações foi de dióxido de carbono e, conseqüentemente baixa fração molar de metano.

O volume de gás gerado nos resíduos de couro e suas combinações foram próximos. Em relação as frações molares, a amostra de lodo de ETE UCS adicionado a amostra de couro apresentou baixa fração molar de metano.

A amostra de arroz apresentou baixa fração molar de hidrogênio quando comparada a amostra de arroz com lodo UCS adicionado. A amostra de lodo de ETE da UCS (Figura 11-D) apresenta a fração molar que melhor caracteriza o biogás, pois sua composição é de aproximadamente 76% de metano e o volume de biogás gerado também foi satisfatório de 53,07 mL. Shanmugam *et al.* (2009) encontraram teor de metano de 56% para o resíduo de lodo de ETE municipal, sendo menor em comparação ao experimento, possivelmente devido a sua composição e presença de microrganismos que auxiliam no processo de digestão anaeróbia. Assim, realizou-se o isolamento a partir do lodo de ETE da UCS. A Tabela 22 apresenta a identificação dos microrganismos isolados.

Tabela 22. Identificação dos microrganismos isolados a partir do lodo ETE UCS (o autor)

Inóculo	Identificação	Período isolamento
Microrganismo 1	<i>Bacillus toyonensis</i>	24h após início ensaio
Microrganismo 2	<i>Bacillus toyonensis</i>	7 dias após início ensaio
Microrganismo 3	<i>Bacillus thuringiensis</i>	14 dias após início ensaio
Microrganismo 4	<i>Bacillus thuringiensis</i>	21 dias após início ensaio
Microrganismo 5	<i>Bacillus thuringiensis</i>	28 dias após início ensaio

Nota ¹: Não foi possível pelas técnicas de extração identificar o microrganismo

A redução dos teores de carbono orgânico e teor de sólidos totais está diretamente relacionada ao processo de digestão anaeróbia, a Tabela 23 apresenta o teor de carbono e o teor de sólidos para os resíduos utilizados neste experimento.

Tabela 23. Teor de carbono, teor de sólidos totais e percentual de redução dos resíduos (o autor)

	Teor Carbono (%)			Teor Sólidos Totais (%)		
	Antes	Depois	Redução	Antes	Depois	Redução
Arroz	20,38	19,81	2,79	56,64	53,54	5,47
Arroz+Lodo ETE UCS	16,78	8,94	46,72	41,72	10,40	75,07
Couro+Lodo ETE UCS	18,75	17,02	9,23	36,70	10,90	70,30
Lodo ETE UCS	32,14	26,84	16,49	26,80	23,20	13,43

A análise da Tabela 24 permite observar que houve redução do teor de sólidos totais e do teor de carbono em todas as amostras, parâmetros estes que indicam que os resíduos foram biodegradados. A maior redução de ambos os teores foi na amostra de arroz e lodo de ETE UCS, o que corrobora com o resultado do volume acumulado de gás gerado, sendo esta combinação o resultado mais promissor em comparação com as outras amostras.

A avaliação do volume de biogás gerado e, sua respectiva fração molar do resíduo de couro, somente, não foram avaliadas neste experimento, pois nos experimentos anteriores o couro apresentou baixo volume de gás gerado e, a fração molar predominante obtida foi de dióxido de carbono.

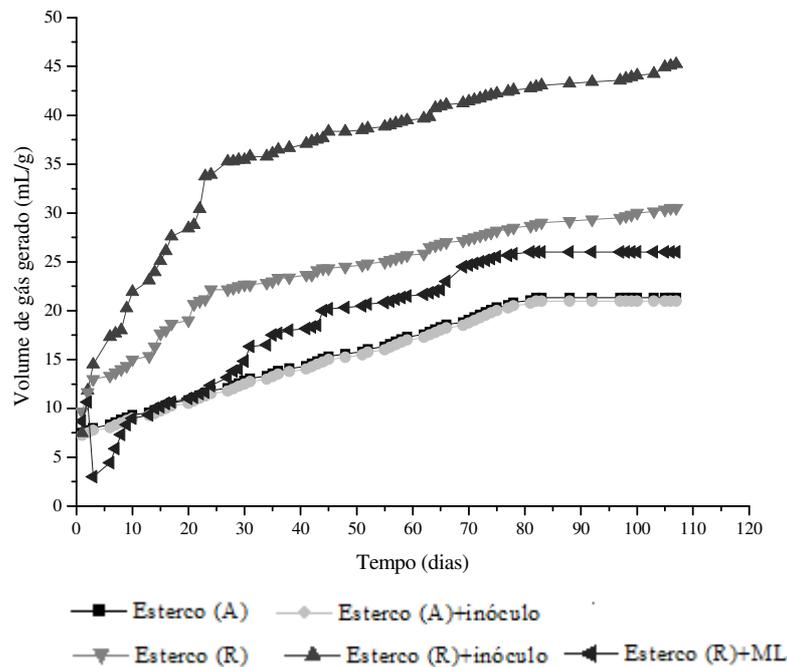
5.2.5 Volume e fração molar do gás gerado a partir da adição de inóculos de microrganismos isolados do lodo da ETE UCS e adição de meio de cultivo líquido

Após o isolamento dos microrganismos, inóculos foram adicionados aos resíduos de arroz, couro, esterco suíno (ração R) e (aveia A), e arroz com adição de lodo de ETE de curtume.

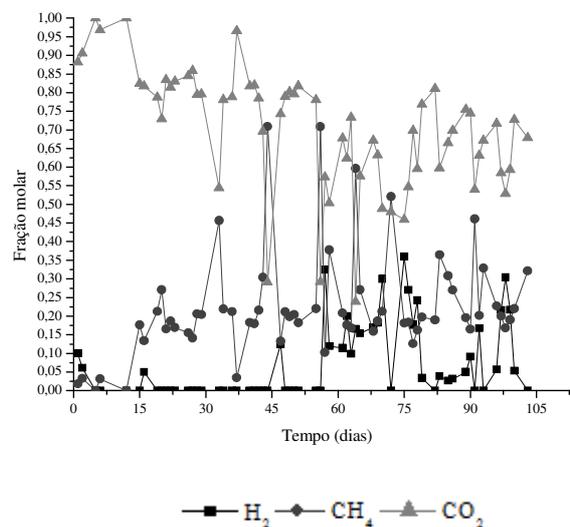
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme descrito no item 4.2.3.7 o isolamento teve como objetivo diferenciar as fases do processo de digestão anaeróbia, assim o inóculo foi adicionado no período correspondente ao isolamento realizado.

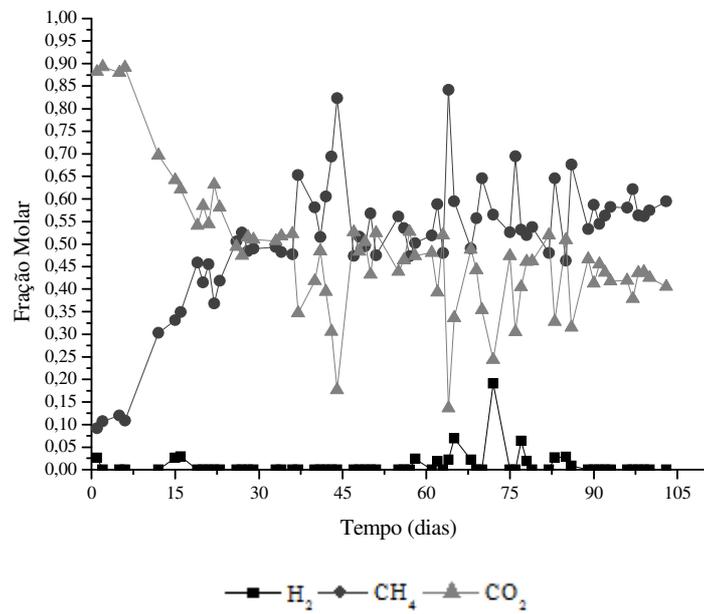
A Figura 11 apresenta o volume acumulado de biogás e as frações molares deste gás, a partir da DA do resíduo de esterco suíno.



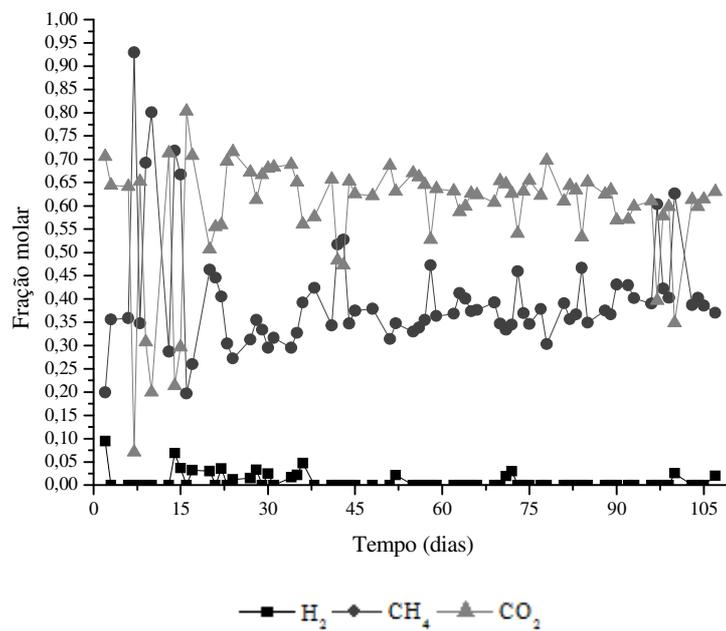
A) Volume acumulado de gás gerado



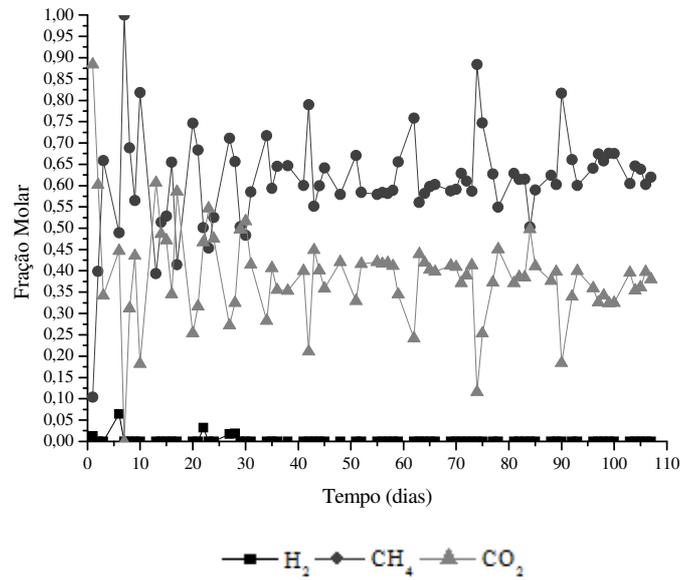
B) Esterco (A)



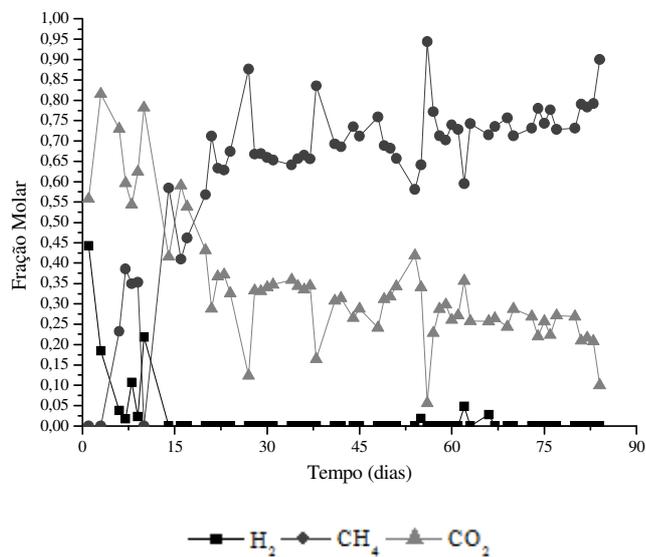
C) Esterco (A) + inóculos



D) Esterco(R)



E) Esterco (R) + inóculos



F) Esterco (R) + ML

Figura 11. Volume e fração molar do biogás gerado a partir dos resíduos de esterco suíno com adição de inóculos e meio de cultivo líquido (o autor)

A partir da Figura 11 é possível verificar que a alimentação do suíno influenciou no volume de gás gerado, bem como a fração molar deste gás. O esterco cuja alimentação foi por ração (R) apresentou maior volume e maior fração molar de metano.

É possível concluir que a adição de inóculo no resíduo de esterco influenciou o aumento do volume de gás gerado e o aumento na fração molar de metano, independente da

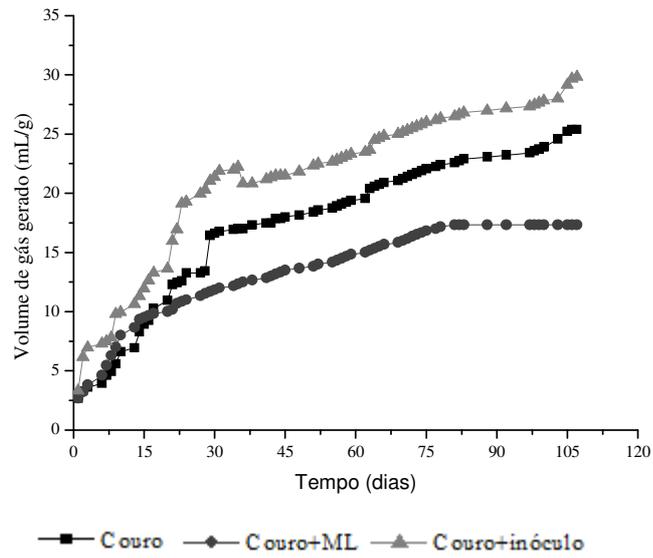
alimentação do suíno. As bactérias adicionadas provavelmente auxiliaram no processo de digestão anaeróbia. De acordo com Pomerantsev *et al.* (2011) a bactéria *Bacillus anthracis* produz proteases, que realizam o processo de hidrólise, etapa importante da digestão anaeróbia.

Jang *et al.* (2014) utilizaram uma mistura de lodos primário e secundário provenientes da ETE municipal para produção de biogás em condições mesófilas e termófilas. Foi realizada eletroforese em gel com gradiente desnaturante e PCR para identificar os microrganismos envolvidos no processo de digestão. Os autores verificaram que durante a digestão do lodo há a presença de *Bacillus* sp. (94%) e *Lactobacillus amylovorus* (95%). *Bacillus* sp. é conhecido como um produtor de enzimas hidrolíticas e é frequentemente detectada em ambientes de digestão anaeróbia.

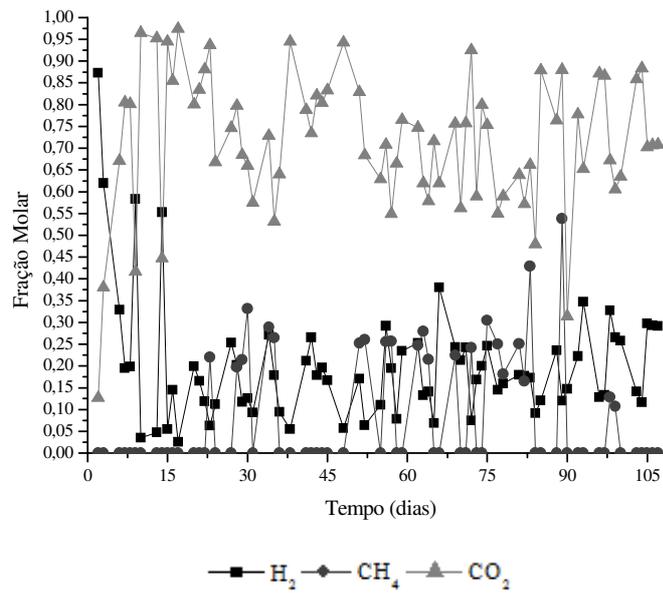
Sendo assim, pode-se inferir que os microrganismos adicionados produziram enzimas e conseqüentemente contribuíram para a hidrólise do resíduo, etapa importante da digestão anaeróbia.

O esterco cuja alimentação do animal foi por aveia (A) apresentou o mesmo volume de biogás gerado com ou sem a adição de inóculos. Porém observa-se aumento na fração molar de metano, de 20 para 55%, quando houve adição de inóculos. O volume de gás gerado pelo esterco (R) com adição de meio de cultivo líquido foi semelhante a amostra de esterco (R), entretanto a fração molar do resíduo com meio de cultivo apresentou maior teor de metano em relação a amostra sem adição de meio de cultivo. O meio de cultivo pode ter favorecido o crescimento de microrganismos já presentes no esterco e que contribuíram para a hidrólise, aumentando o rendimento final de metano. As amostras com adição de inóculo e meio de cultivo apresentaram fração molar de metano semelhante, mas a amostra com inóculo apresentou maior volume de biogás.

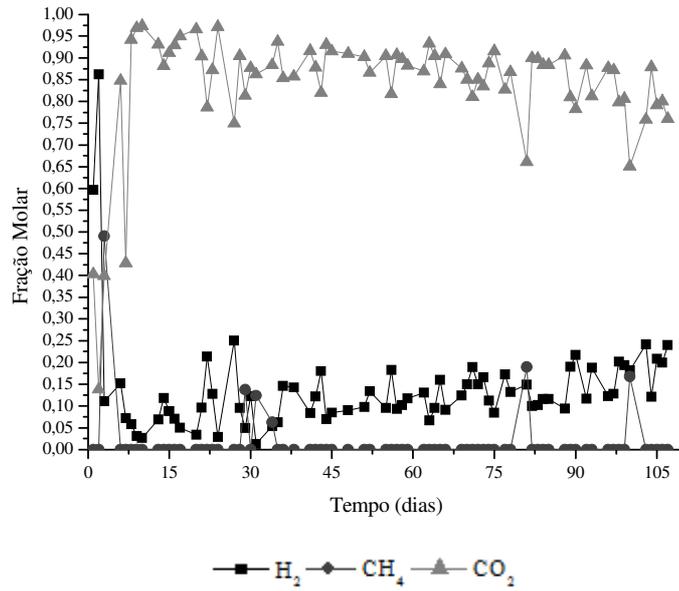
A Figura 12 compara a influência da adição de inóculo e meio de cultivo nos resíduos de couro com pré-tratamento químico e térmico.



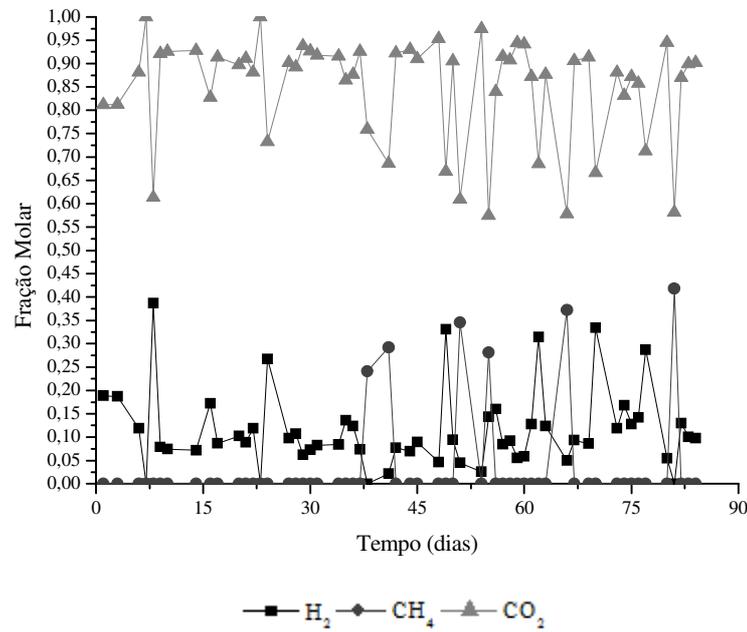
A) Volume de biogás gerado



B) Resíduo de couro



C) Resíduo de couro + inóculo



D) Resíduo de couro + ML

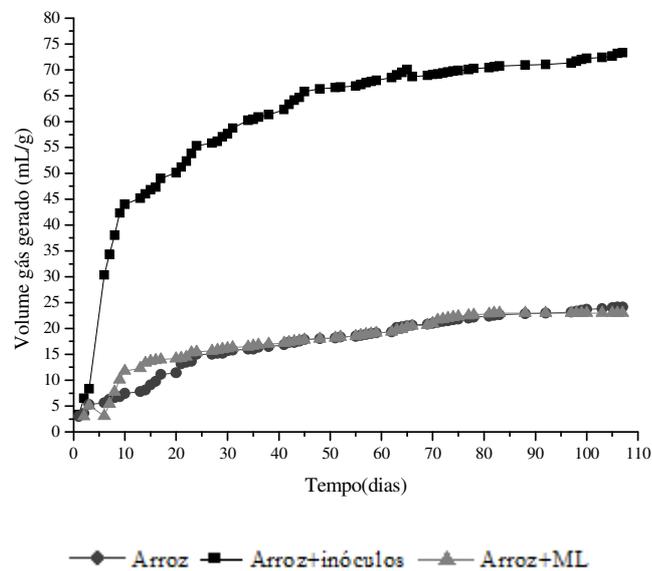
Figura 12. Influência da adição de inóculo e meio de cultivo no volume e na fração molar do gás gerado a partir do resíduo de couro (o autor)

Observa-se que o resíduo de couro com adição de inóculo gerou maior volume quando comparado a adição de meio de cultivo líquido e, comparado a somente o resíduo de couro. A fração molar do gás gerado foi, predominantemente, de dióxido de carbono. A

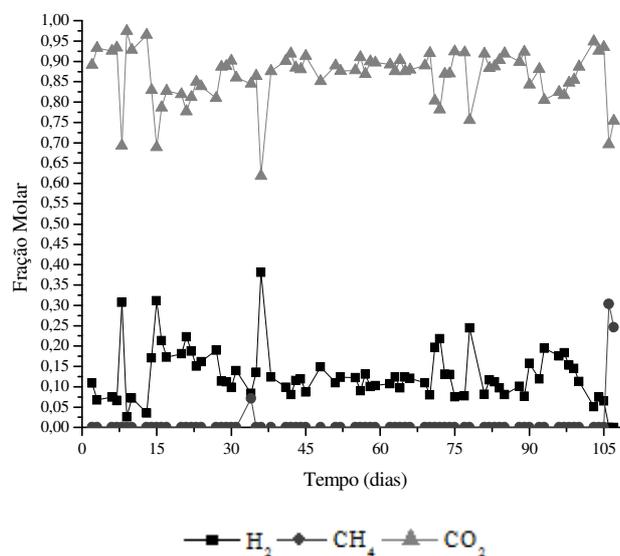
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

fração molar de hidrogênio para o resíduo de couro (0,29) foi semelhante a fração molar do gás gerado pela adição de inóculo ao resíduo de couro (0,24), a adição do meio não proporcionou uma melhora na fração molar (0,10). Este resultado reitera a importância da presença de microrganismos que auxiliam no processo de DA, a adição de inóculo neste resíduo proporcionou um maior volume de biogás gerado.

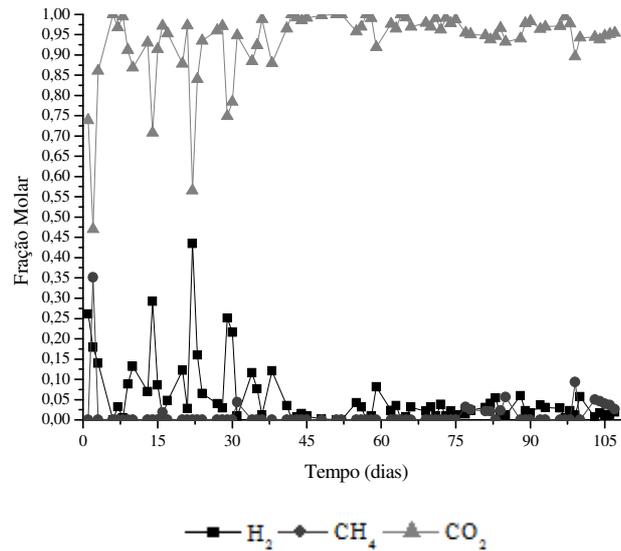
A redução do teor de sólidos e carbono orgânico indicam um processo eficaz de degradação dos resíduos, estando associado o volume de gás gerado. A influência da adição do inóculo e meio de cultivo no resíduo de arroz quanto a geração de gás e a composição deste é apresentada na Figura 13.



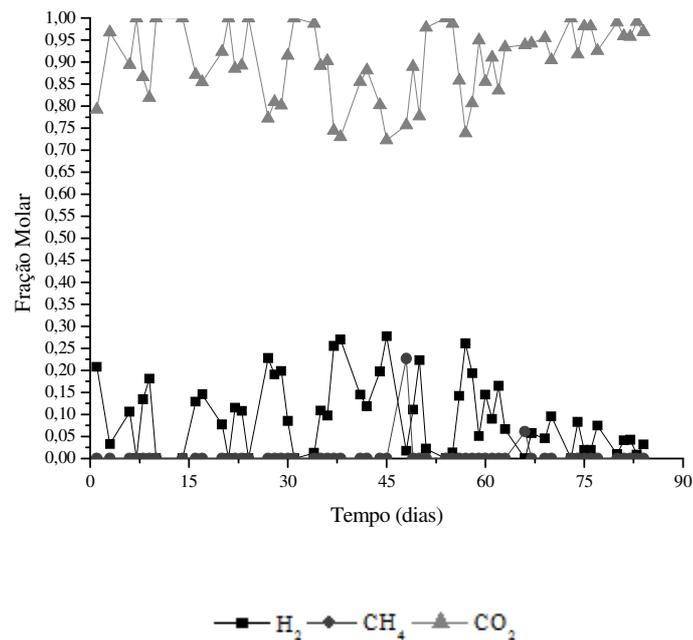
A) Volume acumulado de gás gerado pela DA do resíduo de arroz



B) Fração molar do gás gerado pelo resíduo de arroz



C) Fração molar do gás gerado pelo resíduo Arroz + inóculo



D) Fração molar do gás gerado pelo resíduo Arroz + ML

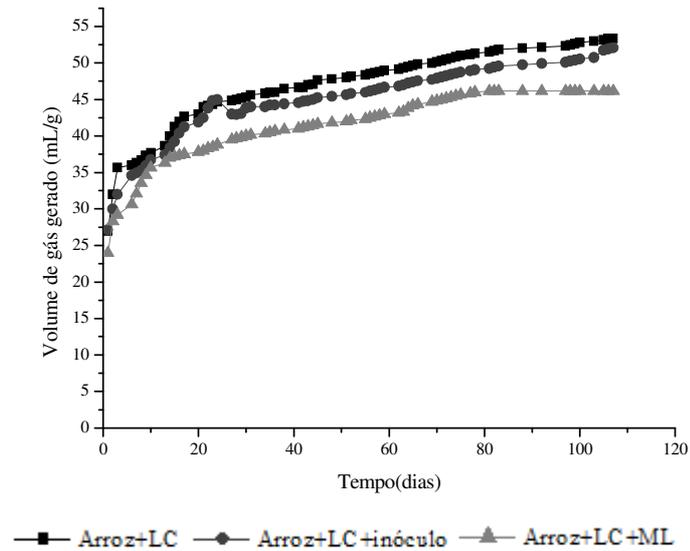
Figura 13. Influência da adição de inóculo e meio de cultivo no volume e na fração molar do gás gerado a partir da DA do resíduo de arroz (o autor)

Observa-se, a partir da Figura 13-A, que o volume de gás gerado pelo resíduo de arroz com adição de inóculo (73,3 mL) foi maior quando comparado com as amostras deste resíduo com adição de meio de cultivo (23 mL) e somente do resíduo de arroz (24,2 mL), a média da fração molar de hidrogênio foi semelhante para as amostras de arroz utilizadas neste

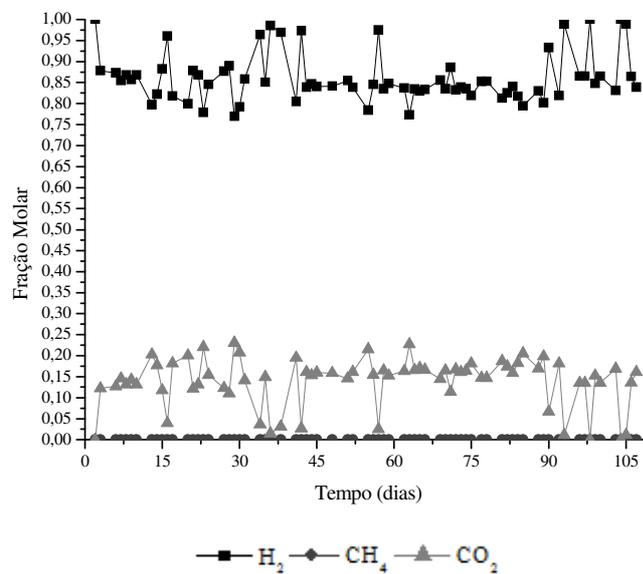
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

experimento. Assim, destaca-se que a adição de inóculos no resíduo de arroz aumento em cerca de 50 mL a geração de biogás.

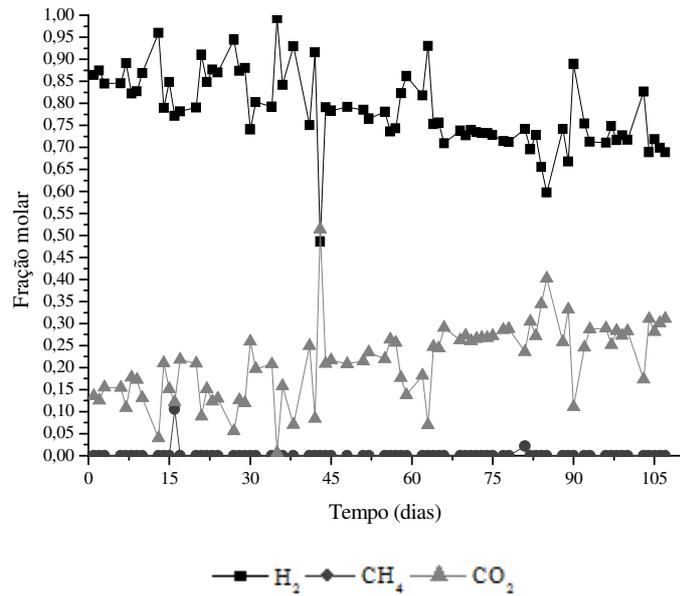
A Figura 14 apresenta a fração molar do gás gerado a partir da adição de inóculo e meio de cultivo em amostras de arroz com lodo de ETE de curtume.



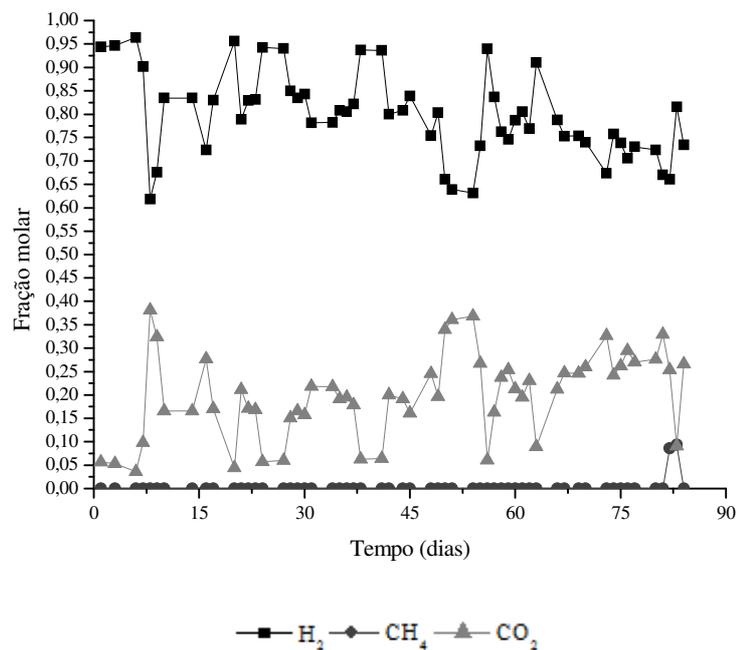
A) Volume de gás gerado pela digestão anaeróbia do resíduo de arroz com lodo ETE curtume (LC)



B) Fração molar do gás gerado a partir do resíduo de arroz + LC



C) Fração molar do gás gerado a partir do resíduo arroz+ LC + inóculo



D) Fração molar do gás gerado a partir do resíduo arroz + LC + ML

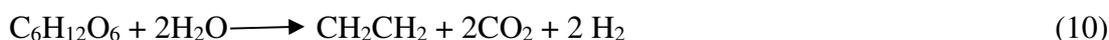
Figura 14. Volume e fração molar do biogás gerado a partir do resíduo de lodo de curtume adicionado ao resíduo de arroz (o autor)

Analisa-se pela Figura 14 que amostra de arroz e lodo de curtume apresentou fração molar de hidrogênio próxima a 1,0 independente da adição de inóculo ou meio de cultivo e, os volumes de gás gerado foram próximos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme Trevisan (2010), os processos fermentativos geram hidrogênio a partir da decomposição de carboidratos presentes em resíduos, polissacarídeos como amido são hidrolisados e transformados em compostos de baixo peso molecular que são transportados para o interior das células bacterianas e convertidas em produtos de interesse, como o hidrogênio.

De acordo com Peixoto (2011), a etapa da digestão anaeróbia que produz hidrogênio é possibilitada por microrganismos acidogênicos que decompõe os substratos em hidrogênio, dióxido de carbono e ácidos graxos voláteis representados pelas equações:



Kavagoshi *et al.* (2005) constataram que o inóculo é um dos fatores determinantes na produção de hidrogênio.

A redução do teor de carbono orgânico e teor de sólidos dos resíduos utilizados neste experimento é apresentada na Tabela 24.

Tabela 24. Teor de carbono orgânico, teor de sólidos totais e percentual de redução após ensaio de DA (o autor)

	Teor carbono (%)			Teor sólidos totais (%)		
	Antes	Depois	Redução	Antes	Depois	Redução
Arroz + inóculo	42,79	24,00	43,91	56,64	20,28	64,31
Esterco (R) + inóculo	26,05	10,17	60,96	30,80	8,42	72,66
Esterco (A) + inóculo	38,67	18,67	51,72	26,97	6,36	76,41
Couro + inóculo	35,49	21,10	40,55	46,76	10,34	77,89
Arroz+lodo ETE curtume+ inóculo	21,20	4,69	77,88	33,95	3,28	90,34
Arroz + ML	42,79	24,15	77,18	56,64	5,76	89,83
Esterco (R) + ML	26,05	2,69	89,67	30,80	9,31	69,77
Esterco (A) + ML	38,67	18,67	51,72	26,97	4,31	84,02
Couro + ML	35,49	17,20	51,54	46,76	8,38	82,08
Arroz + lodo ETE curtume + ML	21,20	4,15	80,42	33,95	2,35	93,17

Verifica-se, a partir da Tabela 24, que os teores de carbono e sólidos totais após o processo de DA reduziram, indicando assim um processo eficaz de digestão anaeróbia para os resíduos avaliados. O resíduo de arroz com adição de lodo de ETE de curtume e adição de inóculo apresentou maior redução no teor de carbono (77,88%) e no teor de sólidos totais (90,34%).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dhayalan *et al.* (2007), apresentou em seu trabalho que as amostras mostraram reduções de 31,5% do teor de carbono orgânico, corroborando com os resultados encontrados neste ensaio.

A fração molar predominante de dióxido de carbono no processo de digestão anaeróbia em resíduos de arroz, couro e suas combinações provoca uma contaminação no biogás produzido reduzindo o poder de queima deste. Entretanto, Férnandes *et al.* (2014) avaliaram a adição de CO₂ em digestores que tratam resíduo de alimento e lodo de ETE municipal. Foram adicionadas diferentes pressões parciais de CO₂ e, os autores verificaram um aumento da produção de metano em até 13% e consequente redução de dióxido de carbono na fração molar do gás obtido, variando de 8 a 34% para o lodo de ETE municipal. Segundo os autores o enriquecimento de CO₂ aumentou a atividade microbiana acetoclástica e assim aumentando a fração molar de metano.

A remoção do dióxido de carbono é o método mais pesquisado, Christy *et al.*, (2014) utilizaram carvão ativado para remoção de dióxido de carbono e ácido sulfídrico. Liu *et al.* (2014), avaliaram a absorção de CO₂ por solução de etanolamina (MEA).

5.2.6 Volume e fração molar do gás gerado a partir da variação do pH e adição do meio de cultivo em resíduos de esterco (R)

As Tabelas 25 apresenta o volume de biogás e a fração molar de metano considerando a variação do pH e a adição do meio de cultivo.

Tabela 25. Volume de biogás gerado no esterco (R) em diferentes condições (o autor)

Experimento	Valores Codificados		Valores reais		Volume de biogás gerado (mL/g)	Fração molar de metano	Volume de metano (mL/g)
	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂			
1	1	-1	9	Sem meio	32,70	0,73	23,87
2	-1	1	7	Com meio	14,00	0,68	9,52
3	-1	-1	7	Sem meio	29,30	0,70	20,51
4	-1	-1	7	Sem meio	34,70	0,67	23,25
5	1	1	9	Com meio	20,70	0,70	14,49
6	1	1	9	Com meio	20,80	0,69	14,35
7	-1	1	7	Com meio	18,00	0,52	9,36
8	1	-1	9	Sem meio	29,70	0,70	20,79

Nota: X₁ = pH, X₂ = meio de cultivo

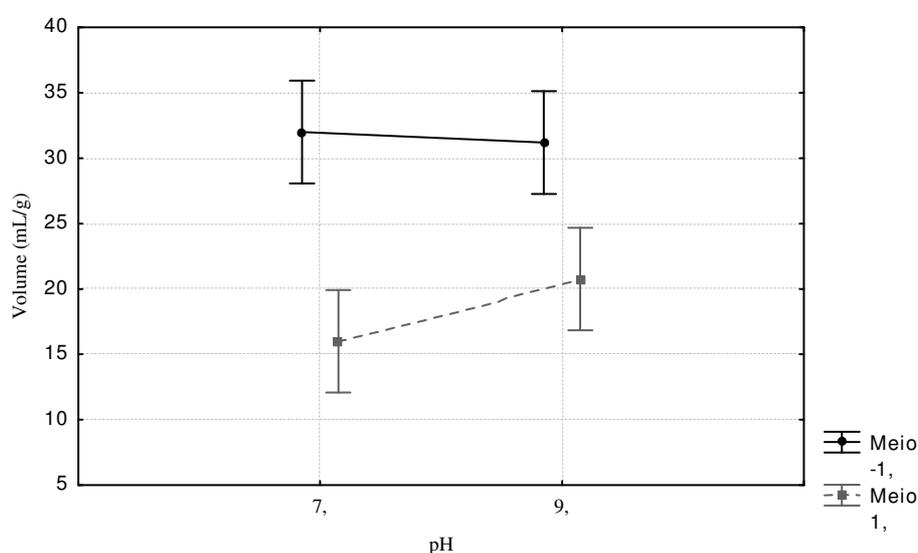
A Tabela 26 apresenta a análise de variância do pH e do meio de cultivo para o volume de gás gerado.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 26. Análise de Variância para o volume de gás gerado para os fatores significativos (o autor)

	Soma quadrados	GDL	Média dos quadrados	F	p
pH	7,801	1	7,801	1,152	0,343
Meio de cultivo	349,801	1	349,801	51,659	0,001
pH e Meio de cultura	15,401	1	15,401	2,274	0,206
Erro	27,085	4	6,771		
Total	400,088	7			

Utilizando um intervalo de confiança de 90% verifica-se, com análise da Tabela 26, que o meio de cultivo é significativo, uma vez que $p < 0,10$. A Figura 15 ilustra a o gráfico de dois fatores indicando a melhor condição para geração de biogás.

**Figura 15.** Gráfico de dois fatores para a adição do meio de cultivo no esterco (R) (o autor)

Verifica-se a partir da Figura 15 que a ausência de meio do cultivo líquido no resíduo de esterco (R) apresenta maior volume de biogás gerado. A Tabela 27 apresenta a análise de variância para a fração molar do gás gerado no resíduo de esterco suíno (R) variando pH e adição de meio de cultivo.

Tabela 27. Análise de variância para o teor de metano gerado pelo resíduo esterco suíno (o autor)

	Soma quadrados	GDL	Média dos quadrados	F	p
pH	0,01	1	0,01	2,27	0,21
Meio de cultivo	0,01	1	0,01	1,60	0,27
pH e Meio de cultura	0,00	1	0,00	0,61	0,48
Erro	0,01	4	0,00		
Total	0,29	7			

A partir da Tabela 27 verifica-se que os fatores com valor p menores que 0,10 foram considerados significativos. Neste caso o pH e a adição de meio não influenciaram a fração

molar de metano do gás gerado, a presença do consórcio microbiano na amostra foi estável para produção de enzimas que degradam o substrato não sendo influenciado pelo aumento do pH nem pela adição do meio de cultivo.

A redução do teor de sólidos para o esterco suíno foi de 67% e, a redução para o teor de carbono foi de 41,10%. Page *et al.* (2015), verificaram uma redução no teor de sólidos totais de 1,65% no resíduo de esterco suíno sólido. O esterco utilizado para o experimento dos autores continha cerca de 2,95% sólidos totais e, como esperado, o esterco digerido mostrou uma redução nestes teor.

Gorduras e proteínas podem produzir grandes quantidades de hidrogênio que conduzem a uma maior quantidade de metano típica para esses substratos. Portanto, o teor de metano no biogás pode variar para diferentes substratos, consórcios biológicos e condições do biodigestor. O teor de metano do biogás pode variar de 40 a 70% em volume, mas frequentemente está no intervalo de 55-65% (ABBASI *et al.*, 2012).

A redução do teor de sólidos totais e teor de carbono orgânico são importantes parâmetros que demonstram a efetividade do processo de digestão anaeróbia. Nos experimentos realizados verificou-se que a redução destes implicaram diretamente no volume de biogás gerado. Em relação as frações molares, observou-se que a adição de inóculos dos microrganismos isolados, a partir do lodo da UCS, aumentou a fração molar de metano no biogás produzido, destacando que estes inóculos provavelmente, foram responsáveis pela produção de enzimas que auxiliaram na conversão de resíduos em biogás.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos no ensaio de digestão anaeróbia de diferentes combinações de resíduos de arroz, resíduo de couro, esterco suíno (A) e lodo de ETE de curtume para avaliação do processo de digestão anaeróbia pode-se concluir que as amostras em que a solução tampão foi adicionada geraram maior volume de biogás. O pH é um fator importante para o processo de digestão anaeróbia pois interfere diretamente na atividade microbiana relacionada ao processo de geração de biogás. O pré-tratamento do resíduo de couro foi efetivo quanto a geração de biogás, proporcionando maior volume de biogás gerado.

A adição de lodo de ETE de curtume no resíduo de arroz proporcionou o melhor resultado no ensaio de DA, justificado pela presença de microrganismos no lodo que auxiliaram no processo de digestão anaeróbia;

O resultado da adição de inóculos contendo microrganismos isolados a partir das combinações que geraram maior volume de biogás do experimento anterior é possível concluir que as amostras que continham arroz geraram maior volume de biogás quando comparadas as amostras com resíduo de couro.

Os inóculos da bactéria A (*Bacillus pumilus*) e da bactéria C (*Staphylococcus warneri*) geraram os maiores volumes de biogás 77 mL/g e 80 mL/g, respectivamente, em comparação com o inóculo da bactéria B (*Exiguobacterium profundum*), 60 mL/g.

A partir dos resultados do experimento que avaliou a influência da adição do meio de cultivo e variação do pH sobre a geração de biogás pelos microrganismos isolados pode-se concluir que a presença do meio de cultivo na amostra do resíduo de couro com adição da bactéria A (*Bacillus pumilus*) influenciou a geração do volume de biogás. A fração molar do gás gerado foi predominantemente dióxido de carbono, a amostra com resíduos de couro cromado pré-tratado apresentou fração molar de hidrogênio em torno de 0,25, a produção de hidrogênio acontece na fase de acidogênese.

A partir dos resultados do ensaio que avaliou a produção de biogás por diferentes combinações de arroz, resíduo de couro, esterco suíno, lodo de ETE UCS conclui-se que a amostra de arroz com a adição do lodo da UCS apresentou o maior volume de gás gerado 132,29 mL/g. A amostra de arroz sem adição de lodo apresentou menor volume quando comparada as amostras com adição de lodo. A adição do lodo da UCS no resíduo de arroz proporcionou um aumento na fração molar de hidrogênio e, o mesmo lodo adicionado no resíduo de couro proporcionou um aumento na fração molar de metano.

6 CONCLUSÕES

A digestão anaeróbia do lodo de ETE UCS apresentou alta fração molar de metano, sendo a amostra que melhor caracteriza o biogás (76%), os microrganismos isolados a partir do lodo da UCS foram *Bacillus toyonensis* e *Bacillus thuringiensis*.

Os resultados provenientes do experimento que verificou o volume e a fração molar do gás gerado a partir da adição de inóculos dos microrganismos isolados do lodo da ETE da UCS e a adição do meio de cultivo líquido permite concluir que a adição de inóculos no resíduo de esterco provocou um aumento do volume de gás gerado, assim como um aumento na fração molar de metano independente da alimentação do suíno.

A adição de inóculos nos resíduos de couro pré-tratado quimicamente e termicamente, resíduo de arroz parboilizado proporcionou um aumento no volume de gás gerado. A fração molar predominante no biogás gerado a partir da adição de lodo de ETE de curtume ao resíduo de arroz foi de hidrogênio, próxima a 1,0, independente da adição de inóculos. A geração de hidrogênio durante o processo de digestão anaeróbia ocorre por microrganismos acidogênicos que decompõem os substratos em hidrogênio, dióxido de carbono e ácidos graxos. A redução dos teores de carbono orgânico e NTK evidenciaram um efetivo processo de digestão anaeróbia nos ensaios realizados neste trabalho.

A partir dos resultados gerados pelo experimento que avaliou a influência do pH e a adição de meio de cultivo líquido do resíduo de esterco suíno foi possível concluir que a adição do meio de cultivo é significativo para o volume de biogás gerado na amostra de esterco (R), porém não influenciou a fração molar de metano.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, fazem-se algumas sugestões para trabalhos futuros:

- Determinar a atividade enzimática de cada microrganismo isolado (protease, amilase, lipase);
- Avaliação da atividade enzimática durante o processo de digestão anaeróbia;
- Realizar os ensaios de digestão anaeróbia em escala de temperatura termófilas;
- Avaliar e comparar métodos para aproveitamento de dióxido de carbono.

REFERÊNCIAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D2868**: Standard Test Method for Nitrogen Content (Kjeldahl) and Hide Substance Content of Leather. West Conshohocken: 2010. 57

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D3790**: Standard Test Method for Volatile Matter (Moisture) of Leather by Oven Drying. West Conshohocken: 2012.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E1756**: Standard Test Method for Determination of Total Solids in Biomass. West Conshohocken: 2008.

ABBASI, T.; Tauseef, S.M.; Abbasi S.A (2012) Anaerobic digestion for global warming control and energy generation—An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16:3228– 3242.

ABASSI-GUENDOUZ, A. *et al.* Total solids content drives high solid anaerobic digestion via mass transfer limitation. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 111, p. 55-61, 2012.

AGUSTÍ, E. *et al.* Pollution reduction in an eco-friendly chrome-free tanning and evaluation of the biodegradation by composting of the tanned leather wastes. **Journal of Cleaner Production**, v. 87, p. 874-881, 2015.

AGUSTINI, C. Isolamento Microbiano na Biodegradação de Resíduos Sólidos, 2014. 128f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

AMON, T. *et al.* Methane production through anaerobic digestion of various energy crops grown in sustainable crop rotations. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 98, p. 3204–3212, 2007.

ANDREOLI, C.V. Resíduo Sólido de Saneamento: Processamento, Reciclagem e Disposição Final, **PROSAB**, disponível em: <www.finep.gov.br/prosab/livros/cleverson.pdf>. Acesso em: 23/04/2013

ARHOUN, B. Biogas production from pear residues using sludge from a wastewater treatment plant digester. Influence of the feed delivery procedure. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 127, p. 242-247, 2013.

AZEVEDO, M.H. 2000. **Características, Produção e Utilização do Biogás Produzido a partir de Resíduos Orgânicos**. Dissertação Mestrado, Promec, Porto Alegre, 2010.

BALASUBRAMANIAN, N & SIMÕES, N. Bacillus pumilus S124A carboxymethyl cellulase; a thermo stable enzyme with a wide substrate spectrum utility. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.I.], v.67, p.132-139, 2014.

BAZJA, Z. & Vrček, V. Thermal and enzymatic recovering of proteins from untanned leather waste. **Waste Management**, [S.I.], v.21, p. 79-84, 2001.

REFERÊNCIAS

- BEEVI, S. B. *et al.* Performance and kinetic study of semi-dry thermophilic anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. **Waste Management**, [S.l.], v.36, p.93-97, 2015.
- BINI, C. *et al.* The chromium issue in soils of the leather tannery district in Italy. **Journal of Geochemical Exploration**, [S.l.], v. 96, p.194-202, 2008.
- CHAE, B *et al.* The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 99, p. 1-6, 2008.
- CHIRSTY, P.M. *et al.* A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. **Renewable and Sustainable Energy Review**, v. 34, p. 167-173, 2-14.
- CHYNOWETH, D. *et al.* Fuel Biochemical methane potential of biomass and waste feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, [S.l.], p. 95-111, 1993.
- CHUDOBA, P.; CAPDEVILLE, B.; CHUDOBA, J. Explanation of biological meaning of the S(o)/X(o) ratio in batch cultivation. **Water Science and Technology**, [S.l.], v.5, p. 743-751, 1992.
- COVINGTON, A.D. *et al.* Biodegradation of solid leather wastes. **Materie Concianti**, [S.l.], v. 79, p. 187-195, 2003.
- CHUANG, Y-S. *etal.* Biohydrogen and biomethane from water hyacinth (*Eichhorniacrassipes*) fermentation: Effects of substrate concentration and incubation temperature. **Hydrogen Energy**, [S.l.], v. 36, p. 14195-14203, 2011.
- CHO H, U. *et al.* Influence of temperature on volatile fatty acid production and microbial community structure during anaerobic fermentation of microalgae **Bioresource Technology**, [S.l.], v.191, p. 475-480, 2015.
- CRAPART, S. *et al.* *Exiguobacterium profundum* sp. nov., a moderately thermophilic, lactic acid-producing bacterium isolated from a deep-sea hydrothermal vent. **Int J Syst Evol Microbiol**, [S.l.], v. 57, p. 287-292, 2007.
- DAUDT, R.; GRUSZYNSKI, C.; KÄMPF, A. Uso de resíduos de couro *wet-blue* como componente de substrato para plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 91-96, 2007.
- DHAYALAN, K. *et al.* Biodegradability of leathers through anaerobic pathway. **Waste Management**, [S.l.], v. 27, p. 760-767, jun. 2007.
- DETTMER, A. **Seleção, isolamento e otimização dos meios de cultivo de microrganismos produtores de enzimas para aplicação ao processamento de peles na etapa de depilação/caleiro**. 2013. 126 f. Tese (Pós Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.
- DETTMER, A. *et al.* Optimization of biotechnological process for hide unhairing in substitution of toxic sulfides. **Chemical Engineering and Tecnology**.

REFERÊNCIAS

- FARIA, S.A.S.C. **Caracterização dos farelos de arroz irrigado e de sequeiro submetidos a diferentes processos de estabilização**. 2008. 79 f. Dissertação (Pós Graduação em Ciência dos Alimentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- FIGUEIREDO, V.J.N. **Utilização de biogás de aterro sanitário para energia elétrica: estudo de caso**. 2010. 148 f. Dissertação de Mestrado (Pós-graduação em Energia) –Escola Politécnica – Faculdade de Economia e Administração – Instituto Eletrotécnica e Energia – Instituto de Física - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- GU, Y. et al. Effect of inoculum sources on the anaerobic digestion of rice straw. **Bioresource Technology**, v. 158, p. 149-155, 2014.
- GUIMARÃES, C.; LANFER-MARQUEZ, U. Estimativa do teor de fenilalanina em sopas desidratadas instantâneas: importância do nitrogênio de origem não-protéica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, 2005.
- GUNCHEVA, M & ZHIRYAKOVA, D. Catalytic properties and potential applications of *Bacillus* lipases Review Article. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [S.I]. v. 68, p. 1-21, 2011.
- GUTTERRES, M. **A Ciência Rumo à Tecnologia do Couro**. Porto Alegre: Tríplice, 2008. V.1, p. 181-191.
- HANSEN, T.L. *et al.* Method for determination of methane potentials of solid organic waste. **Waste Management**, [S.I.], v.4, p. 393-400, 2004.
- HAROUN, M.; IDRIS, A.; OMAR, S. Analysis of heavy metals during composting of the tannery sludge using physicochemical and spectroscopic techniques. **Journal of Hazardous Materials, Amsterdam**, v. 165, p. 111-119, 2009. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S0304389408014271/1-s2.0-S0304389408014271_main.pdf?_tid=86cbdf92-1fcd-11e3-987c-00000aacb35d&acdnat=1379445514_8b92754359ef9ef240e2f073ea206b1b>. Acesso em: 16 mai. 2013.
- HILL, D. T. & BOLTE, J.P. Methane production from low solid concentration liquid swine waste using conventional anaerobic fermentation. **Bioresource Technology**, [S.I], v.74, p. 241-247, 2000.
- HIDAKA, T. *et al.* Comparative performance of mesophilic and thermophilic anaerobic digestion for high-solid sewage sludge. **Bioresource Technology**, [S.I], v.149, p.177-183, 2013.
- HIDALGO, D. & MARTÍN-MARROQUÍN, J. Effects of inoculum source and co-digestion strategies on anaerobic digestion of residues generated in the treatment of waste vegetable oils. **Journal of Environmental Management**, [S.I]. v. 142, p. 17-22, 2014.
- HUANG, X.F. Isolation and characterization of lignin-degrading bacteria from rain forest soils. **Biotechnol Bioeng**, [S.I], v. 110, p. 1616-1626, 2013.
- JANG, H. *et al.* Influence of thermophilic aerobic digestion as a sludge pre-treatment and solids retention time of mesophilic anaerobic digestion on the methane production, sludge digestion and microbial communities in a sequential digestion process. **Water Research**, v. 48, p. 1-14, 2014.

JEIHANIPOUR, A. *et al.* High-rate biogas production from waste textiles using a two-stage process. **Renewable Energy**, v.52, p. 128-135, 2013.

JOHN, E.C. **Implementação de um biorreator para uso de resíduos sólidos urbanos: problemas, ajustes e soluções de laboratório.** 2004. 150 f. Dissertação (Pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalurgia e de Materiais) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

KAFLE, B. *et al.* Anaerobic treatment of apple waste with swine manure for biogas production: Batch and continuous operation. **Applied Energy**, [S.l.], v.103, p. 61-72, 2013.

KALID, A. *et al.* The anaerobic digestion of solid organic waste. **Waste Management**, [S.I.], v. 31, p. 1737–1744, 2011.

KALOUM, S. *et al.* Influence of inoculums/substrate ratios (ISRs) on the mesophilic anaerobic digestion of slaughterhouse waste in batch mode: Process stability and biogas production. **Energy Procedia**, v. 50, p. 57-63, 2014.

KILIÇ, E. *et al.* Chromium recovery from tannery sludge with saponin and oxidative remediation. **Journal of Hazardous Materials**, [S.l.], v.185, p. 456-462, 2011.

KIPPER, E. Tratamento enzimático e produção de biogás por resíduos sólidos de curtume. 2013. 112 f. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

KORZENIEWSKA, E. *et al.* Methanogenic archaeon as biogas producer in psychrophilic conditions. **Journal of Cleaner Production**, v. 36, p. 190-194, 2014.

KULSHRESHTHA, N. *et al.* Neutralization of alkaline industrial wastewaters using *Exiguobacterium* sp. **International Biodeterioration & Biodegradation**. [S.I.], v.64, p. 191-196, 2010.

KUGLARZ, M. *et al.* Microwave and thermal pretreatment as methods for increasing the biogas potential of secondary sludge from municipal wastewater treatment plants **Bioresource Technology**, [S.I.], v. 134, p. 290-297, 2013.

LI, Y.; PARK, S. Y.; ZHU, J. Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S.I.], v.15, p. 821-826, 2011.

LIMA, D. **Biogás a partir de esterco suíno para geração de energia: Uma análise da situação entre Brasil e França**, f. 122. Dissertação. (Mestrado em Processos e Tecnologias Químicas e Bioquímicas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

LIU M-L. *et al.* Biohydrogen production from rice straw hydrolyzate in a continuously external circulating bioreactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, p. 19317-19322, 2014.

MARCOS *et al.* Environmental treatment of slaughterhouse wastes in a continuously stirred anaerobic reactor: effect of flow rate variation on biogas production. **Fuel Processing and Technology**, [S.l.], v. 103, p. 178-182, 2012.

- MAO et al. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S.I], v. 45, p. 540–555, 2015.
- MATA-ALVAREZ, J. *et al.* A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S.I]. v. 36, p.412-427, 2014.
- MELO, E.S.R. *et al.* Avaliação do potencial de geração de biogás a partir de resíduos sólidos urbanos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 2003., 2010, Foz do Iguaçu. **Anais**. Porto Alegre: Cubo, 2010, p.3226-3233.
- MEESTER, S, D. et al. The environmental sustainability of anaerobic digestion as a biomass valorization technology. *Bioresource Technology*, [S.I], v. 121, p. 396-403, 2012.
- MESSUK, S. *et al.* Catalytic reforming of nitrogen-containing volatiles evolved through pyrolysis of composted pig manure. **Bioresource Technology**, [S.I.], v. 150, p. 181-186, 2013.
- MOLINO A. *et al.* Biomethane production by anaerobic digestion of organic waste. **Fuel**, em impressão, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2012.07.070>>. Acesso em: 20 mar.2013, 13:30.
- MOTTA, K. Avaliação da Geração de Biogás de um Biodigestor de Dejetos Bovinos e Suínos. 2012., f. 127. Dissertação. (Mestrado em Meio Ambiente Urbano e Industrial do Setor de Tecnologia)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.
- MOSET, V. *et al.* Start-up strategies for thermophilic anaerobic digestion of pig manure **Energy**, [S.I], v. 74, p. 389-395, 2014.
- NUNES M, L. E PAVONE M,D. Biological treatment of rice culture in greenhouse conditions using the fungus: *Trichoderma* spp. **Interciência**, [S.I], v. 39, p. 185-190, 2014.
- OLIVEIRA, P.A.V. Manual de manejo e utilização dos dejetos de suínos. EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 27, 1993. 188 p.
- OWEN, W.F.; STUCKEY, D.C.; HEALY Jr, J.B. Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. **Water Research**, [S.I.], v.13, p. 485-492, 1979.
- PAGE, L. *et al.* Reduction of volatile fatty acids and odor offensiveness by anaerobic digestion and solid separation of dairy manure during manure storage **Journal of Environmental Management**, [S.I], v. 152, p. 91-98, 2015.
- PANT, G. *et al.* Production, optimization and partial purification of protease from *Bacillus subtilis*. **Journal of Taibah University for Science**, v. 9, [S.I] p. 50-55, 2015.
- PARAWIRA, W. *et al.* Profile of hydrolases and biogas production during two-stage mesophilic anaerobic digestion of solid potato waste. *Process Biochemistry*, v. 40, p. 2945-2952, 2005.
- PIEROBON, R.L. **Sistema de Geração de Energia de Baixo Custo Utilizando Biogás Proveniente de Aterro Sanitário**. 2007. 154 f. Tese (Pós Graduação em Engenharia Mecânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

- PEIXOTO, G. Sistema Fermentativo de Duas Fases para a Produção de Hidrogênio e Metano a partir de Esgoto Sanitário Combinado com Águas Residuárias Industriais. 2011, 214 f. Tese de Doutorado. (Pós-Graduação de Engenharia) – Universidade de São Carlos, São Paulo, 2011.
- PRIEBE, G. *et al.* Biogas Generation of Final Leather Waste Disposal. **Renewable Energy**, [S.I.], 2014.
- PENTEADO, S. **Adubação orgânica: compostos orgânicos e biofertilizantes**, Campinas: Edição do autor, 2007. p.12-17.
- POMERANTSEV, A.P. *et al.* A Bacillus anthracis strain deleted for six proteases serves as an effective host for production of recombinant proteins. **Protein Expression and Purification**.v. 80, [S.I.], p. 80-90, 2011
- POWERA N.; MURPHY J., Which is the preferable transport fuel on a greenhouse gasbasis; biomethane or ethanol?**Biomass& Bioenergy**, [S.I.], v.33, p. 1403-1412, 2009.
- QUIAN, X. *et al.* Co-composting of livestock manure with rice straw: Characterization and establishment of maturity evaluation system. **Waste Management**, em impressão, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.10.007>>. Acessoem: 20 out. 2013.
- RAO, V.P. *et al.* Biogas generation potential by anaerobic digestion for sustainable energy development in India. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S.I.], v. 14, p.2086–2094, 2010.
- RAPOSO, F. *et al.* Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S.I.], v. 16, p. 861-877,2011.
- RIAÑO, B. *et al.* Potential for methane production from anaerobic co-digestion of swine manure with winery wastewater. **Bioresource Technology**, [S.I.], v.102, p. 4131-4136, 2011.
- SABALSAGARAY, B. **Levantamento de produção de resíduos agro-industriais e seu potencial de utilização na indústria da construção**. 1998. 149 f. Dissertação de Mestrado (Pós-graduação em Engenharia Civil) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.
- SANTOS, P.T.A. *et al.* Aproveitamento de Resíduos Coureiros de Indústrias Calçadistas em Campina Grande-PB. 3º Simpósio Iberoamericano de Ingenieria de Resíduos 2º Seminário da Região Nordeste sobre Resíduos Sólidos, João Pessoa, 2010.
- SHANMUGAM, P & HORAN, N.J. Optimising the biogas production from leather fleshing waste by co-digestion with MSW. **Bioresource Technology**, [S.I.], v.100, p.4147-4120, 2009.
- SHAH, F. A. *et al.* Co-digestion, pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S.I.], v.42, p.627-642, 2015.
- SASAKI, D. *et al.* Methanogenic pathway and community structure in a thermophilic anaerobic digestion processo of organic solid waste. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 111, v. 1, p. 41-46, 2011.

REFERÊNCIAS

- SILVA, P.; AMARAL F. Maicapi – metodologia para avaliação de impactos e custos ambientais dos processos industriais: estudo de caso. **Engenharia Sanitária Ambiental**, [S.l.], v. 3, p. 211-222, 2006.
- SCHOLZ, M. *et al.* Transforming biogas into biomethane using membrane technology, **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S.l.], v.17, p. 199-212, 2013.
- THANMAGANI, A. *et al.* Anaerobic co-digestion of hazardous tannery solid waste and primary sludge: biodegradation kinetics and metabolite analysis. **Clean Techn Environ Policy**, [S.l.], v.12, p. 517-524, 2010.
- TAWFIC, A. *et al.* Factors affecting hydrogen production from rice straw wastes in a mesophilic up-flow anaerobic staged reactor. **Renewable Energy**, [S.l.], v.50, p. 402-407, 2013.
- TRAVERSI, D. *et al.* Microbial-chemical indicator for anaerobic digester performance assessment in full-scale wastewater treatment plants for biogas production **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 186, p. 179-191, 2015.
- TREVISAN, V. **Proposta de Metodologia para Determinação da Atividade Hidrogênica Específica**. 2010, 187 f. Dissertação de Mestrado (Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- VAN KAMPEN *et al.* Cloning, purification and characterization of *Staphylococcus warneri* lipase 2. **Biochim, Biophys Acta**, [S.l.], v. 1544, p. 229-241, 2001.
- YAN, Z. *et al.* The effects of initial substrate concentration, C/N ratio, and temperature on solid-state anaerobic digestion from composting rice straw. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 177, p. 266-273, 2015.
- YE, J. *et al.* Improved biogas production from rice straw by co-digestion with kitchen waste and pig manure. **Waste Management**, em impressão, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.05.014>>. Acesso em: 12 dez. 2013.
- YU, D. *et al.* Biogas production and methanogenic archaeal community in mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion processes. **Journal of Environmental Management**, v. 143, p. 54-60.
- ZHANG, C. *et al.* Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S.l.], v.38, p.383–392, 2014.