

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE PESQUISAS HIDRÁULICAS
PPG – RECURSOS HÍDRICOS E SANEAMENTO AMBIENTAL

**Desenvolvimento do Biofilme em Reatores Anaeróbios de
Leito Fluidizado Inverso em Regime Não-Estacionário**

Fabiana da Silva Tessele

Engenheira Química

*Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em Recursos
Hídricos e Saneamento Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia.*

Porto Alegre, Janeiro de 2001.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Luiz Monteggia pelos conselhos, apoio, orientação e incentivo para a realização deste trabalho.

À Prof. Gelsa Englert, por tornar possível a realização das microfotografias e, principalmente, pelo carinho, alegria e amizade.

Ao Rodrigo pelo imprescindível apoio técnico. Aos alunos Cristiane, Glaura, Bernardo e Tiago, pelo apoio na realização do experimento. Aos técnicos do IPH pelo apoio nas análises. Às amigas Vanessa e Karine, pelo convívio alegre e incentivo.

Ao Laboratório de Tecnologia Mineral e Ambiental (PPGEM-UFRGS) por terem me ensinado a metodologia científica, apoio logístico e pelo suporte nas análises físico-químicas.

À empresa TRATEF S.A. pela construção e montagem dos reatores.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

À minha família pela tranquilidade e carinho.

Ao Jorge, pelo carinho e apoio em todas as horas.

Ao Jorge, por supuesto.

RESUMO

A digestão anaeróbia tem se mostrado uma técnica apropriada para o tratamento de resíduos orgânicos, sólidos, líquidos ou suspensões. Diversos tipos de configurações de reatores têm sido empregados de forma a otimizar o processo. Exemplos significativos são os reatores com manto de lodo de fluxo ascendente (UASB), filtros de fluxo ascendente e descendente, tambores rotatórios, leitos fluidizados ou expandidos, ascendentes ou descendentes, entre outros.

Os reatores de leito fluidizado com biofilme estão entre os tipos mais efetivos devido a vários fatores entre os quais destacam-se: alta área interfacial, elevada concentração de biomassa, coeficientes de transferência de massa aumentados (TDH reduzido), redução de problemas de entupimento, caminhos preferenciais ou aprisionamento do gás, controle da espessura do biofilme, e maior capacidade de absorver elevadas cargas orgânicas. As principais limitações destes reatores são a partida, em função da dificuldade de formação de um biofilme estável e o escalonamento para escala real. Os reatores de leito fluidizado inverso apresentam vantagens em relação ao leito fluidizado ascendente, tais como menor consumo de energia, menor probabilidade de arraste de material, facilidade de separação da biomassa e melhor controle da espessura do biofilme.

O objetivo geral deste trabalho foi contribuir para o entendimento dos mecanismos de formação do biofilme e a sua relação com os modelos de adesão e com as dificuldades na partida (*start-up*) de um reator anaeróbio de leito fluidizado inverso. Para tanto foram realizadas as seguintes atividades:

- Projeto e partida de um reator anaeróbio de leito fluidizado inverso expandido usando materiais suporte de baixo custo;
- Remoção de matéria orgânica em efluente sintético;
- Comparação do crescimento do biofilme em diferentes substratos

Foi avaliada a viabilidade de emprego de dois materiais suporte alternativos: polipropileno (PP, da OPP Petroquímica) e aparas de solados de sapatos (EVA expandido, Franca S.A.), nas suas granulometrias originais (<4 mm). Foram calculados parâmetros hidrodinâmicos do sistema e as características do EVA mostraram-se inadequadas para a operação dos reatores.

Dois reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso foram projetados e construídos em acrílico ($D = 0,15$ m $L = 2,0$ m) para o tratamento de um efluente sintético em escala de bancada. Os reatores foram inoculados periodicamente com lodo proveniente de um reator UASB em escala de bancada (10 % v/v). Os reatores foram operados com PP a 35 °C durante 125 dias, com uma taxa de expansão do leito de 1,5 %, TDH = 24 h e velocidade superficial de 24 m.h⁻¹. A carga orgânica alcançada superou 5 kg DQO.m⁻³d⁻¹, a remoção de matéria orgânica (DQO) ficou em torno de 85 % após a estabilização do reator (65 dias), o pH convergiu para valores próximos da neutralidade e o potencial redox manteve-se negativo, alcançando o valor de -300 mV. O reator alimentado com etanol apresentou maior estabilidade frente aos choques de carga do que o reator alimentado em sacarose. Esta diferença deve-se à maior produção de ácidos intermediários, consumindo alcalinidade, e à maior energia livre de Gibbs envolvida na degradação da sacarose. Os valores calculados foram 74 kcal.mol⁻¹ para sacarose e 11,8 kcal.mol⁻¹ para o etanol.

Foram monitorados parâmetros cinéticos envolvendo a formação e crescimento do biofilme por técnicas microscópicas. A análise de microfotografias em microscópio eletrônico de varredura (MEV) mostraram que a adesão de microorganismos teve início nas primeiras horas de operação do reator e a formação inicial de biofilme foi observada em uma semana, pela presença de bactérias imersas em biopolímeros. O crescimento do biofilme foi observado e as etapas de formação puderam ser identificadas e comparadas aos parâmetros convencionais. Adesão inicial ocorreu após 6 h de operação e o crescimento do biopolímero foi observado em 2 semanas. A reprodução de bactérias aderidas foi detectada no 24º dia. Observações no MEV sugerem que as cavidades na superfície do PP foram os locais (sítios) para a colonização inicial, provavelmente em função do reduzido cisalhamento nesta região. A colonização e a formação do biofilme ficaram definidas após o 30º e 44º dias respectivamente e depois do 65º dia não foram observadas mudanças significativas na estrutura do biofilme e foram identificados

microorganismos similares às bactérias metanogênicas. Foram identificadas bactérias morfolologicamente similares à *Methanosarcina sp.* e à *Methanotrix sp.* em ambos os reatores, por MEV. A rugosidade do biofilme e da superfície recoberta foi medida por microscopia de força atômica (MFA), resultando em 75 nm e 561 nm, respectivamente. Estas técnicas microscópicas foram adequadas para a avaliação do crescimento do biofilme sobre o PP. Foi possível estabelecer uma correlação entre o desenvolvimento do biofilme e a evolução da partida do reator. Os resultados obtidos monitorado pelos parâmetros convencionais tais como produção de *ácidos graxos* voláteis, alcalinidade, remoção de DQO, potencial redox, pH e composição do biogás e por microscopia caracterizaram o período de partida em aproximadamente 65 dias. Adicionalmente, os resultados comprovam os modelos tradicionais propostos por diferentes autores para a adesão de microorganismos em reatores anaeróbios de biofilmes.

ABSTRACT

Anaerobic digestion has shown to be a suitable technique for the treatment of diverse organic bearing residues, solids, liquids or suspensions. Many different reactor configurations have been proposed to optimize the overall process. Examples are, among others, UASB reactors, trickling filters, rotating drums, up flow and inverse (down flow) fluidized reactors. Biofilm fluidized bed reactors are usually effective due to factors such as high interfacial area, high biomass hold up and mass transfer coefficient, nor plugging or preferential channels, neither gas trapping, easy (self) control of the biofilm thickness and a high capacity to absorb heavy organic loads.

Main limitations are encountered in the start-up because of difficulties in the biofilm formation and stability and scale up problems. The inverse anaerobic fluidized bed reactor presents some advantages over the conventional (up flow) namely, lower energy consumption, less material entrainment (loss) and a better control of the biofilm thickness.

The main aim of this study was to contribute to the understanding of biofilm formation mechanisms and its relationship with the start up difficulties based on well-established models of adhesion. Accordingly, this work comprises the following:

- Design and start-up of an inverse anaerobic fluidized bed reactor using an alternative, low cost, support material;
- Removal of organic matter from a synthetic wastewater as model;
- Comparison of biofilm growth in different substrates.

The use of two alternative biofilm carrier (< 4 mm original size) was evaluated; polypropylene, PP from OPP, a Petrochemical industry and expanded EVA (ethylene vinyl acetate) shieves obtained from Franca SA. Hydrodynamic parameters were calculated for both carrier and EVA was found to be inadequate for the conditions pre-established in the reactor.

Two 35 L down flow anaerobic fluidized bed acrylic reactors ($D = 0.15$ m $H = 2.0$ m) were designed and constructed to treat a synthetic effluent at bench scale. Inoculation with 10% v/v of sludge from a bench scale UASB reactor was repeated periodically to ensure the presence of methanogenic bacteria. Then, reactors were operated with PP carrier at 35 °C during 125 days at 1.5 % bed expansion rate, HRT = 24 h and 24 $\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$ surface rate. The organic loading rate was greater than 5 $\text{kg COD}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$, yielding 85 % COD removal after reaching the steady state (around 65 days). Medium pH stabilized at about neutral values and the redox potential was kept negative, reaching -300 mV. The reactor that was fed with ethanol was more stable to organic loading shocks than the one fed with sucrose. This difference is due to the higher intermediate organic acid production, decreasing the alkalinity, and to the greater Gibbs free energy of involved in sucrose degradation. Calculated values were 74 $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ for sucrose and 11.8 $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ for ethanol.

Scanning electron microscopy (SEM) monitored the biofilm development and the micrographs confirmed the adhesion mechanism model. Initial adhesion occurred within the first 6 hours of operation and biopolymer growth was clearly observed after two weeks. Attached bacteria reproduction was detected after day 24. SEM observations suggest that cavities in the surface are sites for initial colonisation, probably due to the reduced shear stress therein. Finally, colonisation and biofilm formation were well defined after 30 and 44 days respectively. After day 65 no significant changes were observed in biofilm structure and microorganisms similar to methanogenic bacteria were clearly observed. The presence of cells morphologically similar to *Methanotrix* bacilli and *Methanosarcina* sp. was observed in both reactors, with a predominance of *Methanosarcina* sp. in the reactor fed with sucrose. More, the biofilm and the carrier surface roughness were measured by atomic force microscopy (AFM) and yielded 75 and 561 nm respectively.

These techniques were suitable for monitoring the biofilm growing at the PP carrier surface. More, a good correlation was found between the development of the biofilm and the reactor start-up. Results also showed a concordance SEM monitored parameters and the conventional anaerobic reactors parameters such as volatile organic acids production, alkalinity, COD removal, redox potential, pH and gas composition, configuring a start-up period of 65 days, approximately. These results ratify traditional proposed adhesion models in anaerobic biofilm reactors.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	ii
RESUMO	iv
ABSTRACT	vii
SUMÁRIO	ix
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIÇÕES	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. REATORES ANAERÓBIOS DE ALTA TAXA.....	5
3.2. FUNDAMENTOS DA DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	8
3.3. PARÂMETROS DE CONTROLE DE REATORES ANAERÓBIOS.....	10
3.3.1. <i>Temperatura</i>	10
3.3.2. <i>Alcalinidade e pH</i>	11
3.3.3. <i>Carga Orgânica Aplicada</i>	13
3.3.4. <i>Atividade Metanogênica Específica (AME)</i>	14
3.4. ADERÊNCIA DE MICROORGANISMOS A SUPERFÍCIES SÓLIDAS.....	15
3.4.1. <i>Mecanismos de Aderência</i>	16
3.4.2. <i>Atividade Microbiológica em Interfaces</i>	20
3.5. CARACTERÍSTICAS DA FLUIDIZAÇÃO E EXPANSÃO DE UM LEITO.....	21
3.6. PROCESSOS ANAERÓBIOS DE CRESCIMENTO EM LEITO FIXO.....	24
3.7. TÉCNICAS MICROSCÓPICAS PARA ANÁLISE DOS BIOFILMES.....	26
3.7.1. <i>Microscopia Eletrônica de Varredura</i>	26
3.7.2. <i>Microscopia de Força Atômica</i>	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1. SELEÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL SUPORTE.....	29
4.1.1. <i>Características do Material Suporte</i>	30
4.1.2. <i>Ensaio em Batelada de Crescimento de Biofilme</i>	30
4.2. PROJETO E MONTAGEM DOS REATORES ANAERÓBIOS DE LEITO FLUIDIZADO INVERSO.....	31
4.2.1. <i>Cálculo dos Parâmetros Hidrodinâmicos</i>	31
4.2.2. <i>Características dos Reatores</i>	33

4.2.3. <i>Ajuste dos Parâmetros Hidrodinâmicos</i>	34
4.3. PARTIDA E OPERAÇÃO DOS REATORES.....	35
4.3.1. <i>Análise da Evolução da Partida: Parâmetros de Controle e Avaliação da Eficiência do Processo</i>	37
4.4. ATIVIDADE METANOGÊNICA ESPECÍFICA (AME)	37
4.5. MONITORAMENTO DO CRESCIMENTO DO BIOFILME POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	38
4.5.1. <i>Preparação das Amostras</i>	39
4.5.2. <i>Caracterização Morfológica das Bactérias Metanogênicas</i>	40
4.6. ANÁLISE DA SUPERFÍCIE COLONIZADA POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA.....	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1. ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS REATORES.....	41
5.1.1. <i>Características do Material Suporte</i>	41
5.1.2. <i>Parâmetros Hidrodinâmicos</i>	42
5.1.3. <i>Expansão do Leito de Polipropileno</i>	43
5.2. MEDIÇÃO DA CARGA SUPERFICIAL DAS PARTÍCULAS DO LODO	45
5.3. RESULTADOS DA OPERAÇÃO DOS REATORES.....	47
5.3.1. <i>Parâmetros de Monitoramento do Processo: pH, Ácidos graxos Voláteis, Alcalinidade e Potencial Redox</i>	48
5.3.2. <i>Remoção de Matéria Orgânica</i>	54
5.3.3. <i>Composição do Biogás</i>	59
5.3.4. <i>Atividade Metanogênica Específica</i>	59
5.4. DINÂMICA DE FORMAÇÃO DO BIOFILME	60
5.4.1. <i>Caracterização Morfológica dos Organismos Anaeróbios do Biofilme</i>	67
5.5. AVALIAÇÃO DA SUPERFÍCIE COLONIZADA POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA..	68
6. CONCLUSÕES	73
TRABALHOS FUTUROS	75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
ANEXO I	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
ANEXO II	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 3.1. Sumário dos primeiros estudos de tratamento anaeróbio em leito fluidizado de efluentes de diversos setores industriais em escala piloto.</i>	6
<i>Tabela 3.2. Principais grupos de microorganismos anaeróbios.</i>	8
<i>Tabela 3.3. Resumo de parâmetros de operação e desenho para processos anaeróbios de leito fixo para o tratamento de efluentes líquidos.</i>	25
<i>Tabela 3.4. Vantagens e desvantagens da microscopia de força atômica de contato.</i>	28
<i>Tabela 4.1. Análises empregadas para o monitoramento do desempenho do processo.</i>	37
<i>Tabela 4.2. Características de alguns gêneros conhecidos de bactérias metanogênicas.</i>	40
<i>Tabela 5.1. Parâmetros hidrodinâmicos teóricos para o sistema de fluidização inversa usando PP e EVA.</i>	42
<i>Tabela 5.2. Estudos reportados usando polipropileno como material suporte para reatores de leito fluidizado inverso.</i>	44
<i>Tabela 5.3. Etapas desenvolvidas na operação dos reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso.</i>	47
<i>Tabela 5.4. Resumo dos parâmetros de monitoramento ao longo da operação dos reatores.</i>	53
<i>Tabela 5.5. Resumo dos parâmetros de desempenho dos reatores.</i>	57

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 3.1. Principais passos metabólicos da biodegradação de substratos orgânicos em reatores anaeróbios.</i>	9
<i>Figura 3.2. Representação gráfica da equação de Michaelis-Menten.</i>	14
<i>Figura 3.3. Representação esquemática dos passos envolvidos na colonização da superfície por microorganismos e formação do biofilme.</i>	19
<i>Figura 3.4. Fluidização de um leito de partículas sólidas.</i>	21
<i>Figura 4.1. Diagrama esquemático dos reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso.</i>	33
<i>Figura 4.2. Reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso em operação.</i>	35
<i>Figura 4.3. Amostra de polipropileno contendo biofilme após preparação para o microscópio eletrônico de varredura (fixação, desidratação e metalização).</i>	39
<i>Figura 5.1. Microfotografias (Microscópio Eletrônico de Varredura) da superfície dos materiais selecionados para suporte dos reatores.</i>	41
<i>Figura 5.2. Expansão do leito em função da velocidade superficial.</i>	43
<i>Figura 5.3. Variação do Potencial Zeta do lodo em função do pH</i>	45
<i>Figura 5.4. microfotografia da superfície pré condicionada do PP.</i>	47
<i>Figura 5.5. Valores de pH e sua variância ao longo da operação do Reator A.</i>	49
<i>Figura 5.6. Valores de pH e sua variância ao longo da operação do Reator B.</i>	49
<i>Figura 5.7. Concentração de alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3\text{L}^{-1}$) afluente e efluente aos reatores A e B.</i>	50
<i>Figura 5.8. Composição dos ácidos graxos voláteis (AGV) no reator A.</i>	51
<i>Figura 5.9. Composição dos ácidos graxos voláteis (AGV) no reator B.</i>	51
<i>Figura 5.10. Predominância dos ácidos graxos voláteis nos reatores A e B.</i>	52
<i>Figura 5.11. Variação do potencial redox nos reatores A e B.</i>	53
<i>Figura 5.12. Valores de demanda química de oxigênio na entrada e saída dos reatores.</i>	54
<i>Figura 5.13. Carga orgânica volumétrica aplicada aos reatores A e B.</i>	55
<i>Figura 5.14. Variação da remoção de matéria orgânica com o aumento da carga orgânica aplicada.</i>	56
<i>Figura 5.15. Variação da composição do biogás durante a operação dos reatores.</i>	59
<i>Figura 5.16. Representação das diferentes fases de crescimento do biofilme anaeróbico nos reatores de leito fluidizado inverso.</i>	60
<i>Figura 5.17. Superfície do PP (MEV) após 8 horas de operação, Reator A.</i>	61
<i>Figura 5.18. Etapas 1, 2, 3, 4 e 5 de crescimento do biofilme a partir das cavidades do polipropileno, durante o período de 65 dias.</i>	62
<i>Figura 5.19. Seqüência de aumentos da mesma área do PP para o reator alimentado em sacarose.</i>	65
<i>Figura 5.20. Características morfológicas dos biofilmes em estado estacionário (após 120 dias). MEV. Reator A = etanol; Reator B = sacarose.</i>	66
<i>Figura 5.21. Microfotografias de alta magnificação do biofilme em estado estacionário. Exceção microfotografia (d), com 38 dias.</i>	67
<i>Figura 5.22. Microfotografia em microscópio de força atômica de uma região da superfície de uma amostra de polipropileno após colonização.</i>	68
<i>Figura 5.23. Microfotografia em microscópio de força atômica de uma região da superfície de uma amostra de polipropileno após colonização.</i>	69
<i>Figura 5.24. Microfotografia em MFA mostrando a estrutura, profundidade e aspecto superficial do biofilme.</i>	70
<i>Figura 5.25. Microfotografia da superfície do polipropileno mostrando o biopolímero aderido à uma região pouco rugosa da superfície.</i>	71
<i>Figura 5.26. Relevos do biofilme, analisado a uma profundidade de 500 nm.</i>	71
<i>Figura 5.27. Medida da rugosidade do biofilme e da superfície total recoberta.</i>	72

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIações

Símbolo	Unidade	Significado
AME	mL CH ₄ .mg ⁻¹ SSV	Atividade metanogênica específica
Ar	Adimensional	Número de Arquimedes
C	m	Comprimento do leito
C _D	Adimensional	Coefficiente de cisalhamento
D	m	Diâmetro interno do leito
d	dia	Tempo
d _p	m	Diâmetro das partículas do leito
DQO	mg.L ⁻¹ O ₂	Demanda química de oxigênio
EPS		Polímeros extracelulares
g	m.s ⁻²	Constante da força da gravidade
K _s	d ⁻¹	Constante de saturação da equação de Michaelis-Mentem
L	kg DQO.m ⁻³ .d ⁻¹	Carga orgânica volumétrica
L _s	kg DQO.m ⁻² .d ⁻¹	Carga orgânica superficial
MEV		Microscopia eletrônica de varredura
MFA		<i>Microscopia de força atômica</i>
pH	Adimensional	Potencial hidrogeniônico = -log[H ⁺]
Q	m ³ .s ⁻¹	vazão da fase contínua
Re	Adimensional	Número de Reynolds
Re _p	Adimensional	Número de Reynolds de partícula
S	m ²	Área da seção transversal do leito sem recheio
SAV	mg	Sólidos aderidos voláteis
SSV	mg	Sólidos suspensos voláteis
U	m.s ⁻¹	velocidade superficial da fase líquida
UASB		<i>Upflow Anaerobic Sludge Bed Reactor</i>
U _t	m.s ⁻¹	Velocidade terminal das partículas
μ	Poise	Viscosidade do fluido
ρ _l	kg.m ⁻³	Massa específica do líquido
ρ _p	kg.m ⁻³	Massa específica da partícula
σ	N.m ⁻¹	Tensão superficial do fluido

1. INTRODUÇÃO

Os sistemas de tratamento de águas residuárias contendo matéria orgânica, até os anos 70, eram predominantemente os lodos ativados aeróbios. O emprego de reatores anaeróbios era restrito à digestão de lodos e efluentes muito concentrados, principalmente em função de sua baixa cinética. Entretanto, com a crise do petróleo e a perspectiva de escassez mundial de energia, surgiu a necessidade de desenvolvimento de processos de tratamento energeticamente econômicos. Neste contexto, diversos pesquisadores produziram um número significativo de trabalhos voltados ao emprego de reatores anaeróbios otimizados (ou de alta taxa), inclusive em função da perspectiva de aproveitamento do biogás.

Os crescentes custos de energia e a simultânea necessidade de sistemas de tratamento mais eficientes e compactos conduziram ao aperfeiçoamento das tecnologias tradicionalmente empregadas, bem como o desenvolvimento de novas alternativas para a depuração de águas residuárias contendo matéria orgânica (Anderson et al, 1990). Neste contexto, a digestão anaeróbia tem se mostrado uma técnica apropriada para o tratamento de resíduos orgânicos, sólidos, líquidos ou suspensões, com vantagens significativas em relação à maioria dos processos convencionais aeróbios (Marín *et al.*, 1999).

O processo anaeróbio envolve a conversão da matéria orgânica presente nas águas residuárias a metano e dióxido de carbono através de uma série de reações bioquímicas envolvendo um consórcio de microorganismos facultativos e estritamente anaeróbios (Bordacs e Young, 1997). O potencial do uso do biogás gerado pela digestão anaeróbia como uma fonte de energia vem sendo crescentemente viabilizado e estima-se que seu uso efetivo seja possível nos próximos anos (Binot *et al.*, 1983; Nyns e Gendebien, 1993).

Diversos tipos de configurações de reatores anaeróbios têm sido empregados de forma a otimizar o processo. Exemplos significativos são os reatores com manto de lodo de fluxo ascendente (UASB), filtros de fluxo ascendente e descendente, tambores rotatórios, biodiscos, leitos fluidizados ou expandidos, ascendentes ou descendentes, entre outros (Hickey *et al.*, 1991).

Em comparação com as demais tecnologias, os reatores de leito fluidizado possuem a maior capacidade de absorver elevadas cargas orgânicas (Metcalf e Eddy, 1991; Hickey *et al.*, 1991). As principais vantagens dos reatores de leito fluidizado são (Andrews e Trapasso, 1985; Iza, 1991; Marín *et al.*, 1999):

- elevada concentração de biomassa;
- alta área superficial disponível para a adesão dos microorganismos;
- diluição inicial do afluente devida à recirculação da vazão;
- coeficientes de transferência de massa incrementados pelo regime de fluxo;
- ausência de problemas de entupimento, formação de caminhos preferenciais ou aprisionamento do gás;
- possibilidade de modificar as características superficiais do material suporte para uma aplicação específica;
- capacidade de controle e otimização da espessura do biofilme;
- cinética de consumo de substrato acelerada;
- manutenção e operação simples e possibilidade de controle automatizado.

Entretanto, apesar de ~~que~~ a aplicação de reatores de leito fluidizado ao tratamento anaeróbio de efluentes líquidos ~~tem~~^{ter} sido estudada por diversos autores em escala de laboratório e piloto, são poucas as aplicações industriais conhecidas e reportadas, ao passo que os reatores UASB são predominantes (Iza, 1991; Karamanev e Nikolov, 1996; Marín *et al.*, 1999).

A etapa determinante na degradação da matéria orgânica em um reator de biofilmes é a difusão dos compostos (nutrientes, oxigênio, matéria orgânica dissolvida) através do biofilme. Em função do constante movimento das partículas e do aumento de área superficial ocorre um significativo aumento das taxas de transporte de massa. Segundo Nikolov (1994), um aumento na diferença de massa específica entre a fase sólida e o líquido e a diminuição da viscosidade da fase líquida afetam positivamente as taxas de transferência de massa.

Uma limitação dos processos de biodegradação de crescimento em leito fixo está associada ao aumento da espessura do biofilme, resultante da reprodução dos microorganismos (Karamanev, 1992). Isto prejudica a difusão de substrato até as camadas internas do biofilme. A falta de fontes de energia para os microorganismos nestas camadas (*starvation*) provoca o fenômeno de desadesão, no qual frações do biofilme desprendem-se e prejudicam a operação do biorreator. Segundo Karamanev (1996), a espessura máxima sem que haja restrições difusivas fica em torno de 100 μm . Este valor é considerado adequado para uma boa operação.

A fluidização inversa pode resolver este problema, pois é possível controlar a espessura do biofilme variando a razão de recirculação e, conseqüentemente, o coeficiente de arraste na interface sólido-líquido. Entretanto, algumas limitações são observadas, como o custo do material de suporte e, principalmente a cinética lenta de formação do biofilme devida a baixa velocidade de reprodução das bactérias anaeróbias (Cheng *et al.*, 1997).

O período de partida do reator, até o estabelecimento do estado estacionário, está diretamente relacionado ao adequado desenvolvimento de um biofilme uniforme, com elevada densidade de microorganismos, com espessura ótima. Adicionalmente, é desejado que os microorganismos mantenham-se na fase exponencial de crescimento, quando ocorre o maior consumo de substrato por célula.

Os estudos realizados nesta área avaliam predominantemente o processo como uma “caixa preta”, através de parâmetros macroscópicos de entrada e saída do reator. A presente pesquisa visou contribuir com o desenvolvimento da engenharia de bio-reatores desde o ponto de vista dos microorganismos, avaliando as etapas iniciais do desenvolvimento do biofilme sobre um material suporte alternativo (polipropileno) durante o período de partida de dois reatores anaeróbios, alimentados com diferentes substratos sintéticos.

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi o monitoramento da partida de reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso usando como ferramenta o acompanhamento do desenvolvimento do biofilme por técnicas avançadas de microscopia.

Os objetivos específicos foram:

- projeto e operação de dois reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso usando substratos sintéticos (sacarose e etanol) e materiais suporte não convencionais.
- avaliação da viabilidade de emprego de materiais suporte, de baixo custo e alta durabilidade
- monitoramento da partida dos reatores empregando diferentes substratos em concentrações crescentes;
- avaliação de resultados obtidos por técnicas microscópicas e macroscópicas de monitoramento de partidas de reatores: eficiência de remoção de matéria orgânica, pH, potencial redox, alcalinidade, teor de ácidos graxos voláteis, produção e composição do biogás.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Reatores Anaeróbios de Alta Taxa

A principal característica dos sistemas de alta taxa é a desvinculação do tempo de retenção hidráulico com o tempo de retenção celular (Metcalf e Eddy, 1991). Qualquer configuração de reator que separe o tempo de residência celular do hidráulico remove as limitações inerentes de reatores de crescimento em leito suspenso tais como a carga de nutrientes, reatividade da cultura e taxa de crescimento (Bryers, 1993). Esta separação propiciou o aumento das taxas de aplicação em reatores anaeróbios e, conseqüentemente, permitiu significativa redução do tempo de retenção hidráulico (Pavlostathis e Gomez 1991). Os reatores desenvolvidos nesta época incluem os reatores UASB (Lettinga, 1978; Lettinga e Vinken, 1980), os filtros anaeróbios (reatores de leito fixo) e os reatores de leito fluidizado ou expandido (Tabela 3.1). Filtros anaeróbios e reatores de leito fluidizado não necessitam de um dispositivo de separação para acumular biomassa no reator. A retenção é realizada através da adsorção e adesão de bactérias sobre um material suporte inerte na forma de um biofilme com ligações bastante fortes (Defour *et al.*, 1994).

As geometrias de reatores de biofilme ou de filme fixo usualmente empregadas são (Charaklis, 1990):

- Reatores de mistura completa, tais como contadores biológicos rotatórios (RBC);
- Reatores de leito empacotado; conhecidos como filtros biológicos
- Leitos fluidizados de areia, plástico, carvão ativado, cerâmicas, etc.

Zoutberg e Been (1997) combinaram características do reator de leito fluidizado e do reator UASB, resultando no reator EGSB[®] (leito expandido de lodo granular). Segundo estes autores, a tecnologia de leitos fluidizados biológicos teve sucesso limitado em função de problemas práticos no controle da adesão de biofilmes ao material suporte. Por outro lado, os reatores UASB, baseados no crescimento de lodo granular e um separador trifásico tem sido sucesso comercial no mundo inteiro.

Collins *et al.* (1998) estudaram o tratamento de águas residuárias domésticas diluídas usando um reator anaeróbio de leito expandido. Foram alcançadas eficiências de remoção de DQO superiores a 90% e o reator operou de maneira estável mesmo em temperaturas baixas (20 °C).

Tabela 3.1. Sumário dos primeiros estudos de tratamento anaeróbio em leito fluidizado de efluentes de diversos setores industriais em escala piloto (Adaptado de Henze e Harremões, 1983).

<i>Tipo de efluente</i>	<i>Concentração, Referência</i> <i>kg DQO.m⁻³</i>	
Laticínios	-	Jenkins <i>et al.</i> (1981)
Fábrica de Cidra	6-18	Hall (1982)
Refrigerantes	5-7	Barbara e Gasser (1979), Hickey e Owens (1981), Jeris (1982)
Processamento de alimentos	7,2-9,4	Hickey e Owens, 1981 Jeris, 1982
Processamento de soja	9	Sutton e Li (1981)
Soro de queijo	52-54	Jeris (1982)
Permeado de soro de queijo	7-56	Hickey e Owens (1981), Sutton e Li (1981), Li <i>et al.</i> (1982)
Panificação	9	Jeris (1982)
Ácido cítrico	-	Binot <i>et al.</i> (1981)
Remoção de sulfeto do condensado de evaporadores	0,5-2	Norrman (1981)
Licor negro (celulose)	5,6	Sutton e Li (1981)
Indústria química	11	Jeris (1982)

A maioria dos microorganismos aderem-se espontaneamente a diversas superfícies sólidas inertes quando em contato com o fluido no qual estes crescem (van Loosdrecht, 1990). Após a adesão, os microorganismos produzem exopolissacarídeos para fixarem-se à superfície sólida. Esta estrutura formada entre os microorganismos e seus polímeros extracelulares é conhecida como biofilme.

Os reatores de leito fluidizado são empregados em processos nos quais partículas sólidas servem de suporte para o crescimento de microorganismos. Lazarova *et al.* (1997)

estudaram a dinâmica da população e a composição do biofilme em um reator trifásico de leito circulante aplicado à remoção de nutrientes. Estes autores empregaram a técnica de microscopia eletrônica de varredura para mostrar a adesão inicial de células sobre o material suporte quando o reator atingiu estado estacionário.

O gás metano possui um valor potencial para o aquecimento do digestor com o objetivo de melhorar o desempenho do reator ou para a produção de energia. Segundo Hickey e Owens (1981), pelo aproveitamento da energia proveniente do metano produzido o processo teria o investimento retornado em pouco tempo (3 a 5 anos). A principal vantagem da digestão anaeróbia é o reduzido volume de excesso de biomassa produzido durante a biodegradação.

Binot *et al* (1983) estudaram a produção de metano a partir do resíduo da fermentação de ácido cítrico e concluíram que em reatores de células imobilizadas a conversão foi significativamente maior que em sistemas convencionais. Para uma carga orgânica em torno de $1900 \text{ kgDQO.d}^{-1}$, um reator anaeróbio de leito fluidizado pode produzir 2300 kWh.d^{-1} enquanto que um processo de lodos ativados consumiria entre 600 e 900 kWh.d^{-1} (Jeris, 1983).

Shieh e Mulcahy (1983) publicaram o primeiro modelo matemático para a cinética dos reatores anaeróbios de leito fluidizado. Os autores concluíram que a ordem da reação é alterada em função das limitações de transferência de massa e, portanto, as características do material suporte e a espessura do biofilme são os parâmetros mais significantes para o projeto destes reatores.

Nos últimos anos diversos progressos técnicos tem sido realizados no campo dos reatores anaeróbios, conduzindo a elevadas concentrações de biomassa e tempos de retenção bastante reduzidos (Molettá *et al.*, 1994). García-Calderón *et al.* (1998a) empregaram um reator de leito fluidizado inverso no tratamento do efluente de uma vinícola e seus resultados mostram que o reator apresentou eficiência bastante satisfatória, para uma carga orgânica aplicada de $4,5 \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

Meraz e Alvarez-Ranmirez (2000) desenvolveram um modelo para a dinâmica de imobilização de bactérias anaeróbias em polietileno usando um sistema de leito fluidizado inverso de 0,5 L, usando acetato e glucose como fontes de carbono. Estes autores concluíram que o modelo global para a cinética de adesão aproxima-se ao de primeira ordem. O gênero predominante de bactérias anaeróbias, identificado morfológicamente por microscopia eletrônica de varredura, foi o *Methanosaeta sp.*

A fluidização inversa é um sistema que pode ser composto tanto pelas fases sólida, líquida e gasosa como simplesmente pelas fases líquida e sólida (Nikolov, 1996). A principal diferença entre a fluidização convencional e a inversa é que a massa específica das partículas sólidas é menor que a do fluido em fase contínua e, portanto, o leito é expandido no sentido descendente.

3.2. Fundamentos da Digestão Anaeróbia

A bioquímica e microbiologia dos processos anaeróbios é muito mais complexa do que a do aeróbio. Este é o resultado da disponibilidade de diversos caminhos disponíveis para uma comunidade anaeróbia (Henze e Harremões, 1983). Basicamente a degradação anaeróbia é realizada por dois grupos de bactérias: as produtoras de ácido e as produtoras de metano. Estes dois grupos podem ser divididos em dois sub-grupos cada (Tabela 3.2.). Destes grupos, população metanogênica é fortemente predominante, podendo consistir em até 90% do total (Britz *et al.*, 1994).

Tabela 3.2. Principais grupos de microorganismos anaeróbios (Britz *et al.*, 1994).

Bactérias produtoras de ácido	<ul style="list-style-type: none"> • formadoras de ácido propiônico e butírico • acetogênicas (acetato e H₂)
Bactérias produtoras de metano	<ul style="list-style-type: none"> • Acetoclásticas • Hidrogenotróficas

O processo de tratamento metanogênico está fundamentado em uma relação simbiótica balanceada entre populações microbianas interativas mas distintas. Este

processo envolve a conversão da matéria orgânica presente nas águas residuárias a metano e dióxido de carbono através de uma série de reações envolvendo uma associação de microorganismos facultativos e estritamente anaeróbios. Conforme apresentado na Figura 3.1., a matéria orgânica complexa (proteínas, ácidos graxos, compostos orgânicos complexos) é convertida, através de hidrólise enzimática, para compostos orgânicos solúveis intermediários de menor peso molecular, principalmente álcoois, açúcares e aminoácidos (Guerrero et al, 1999).

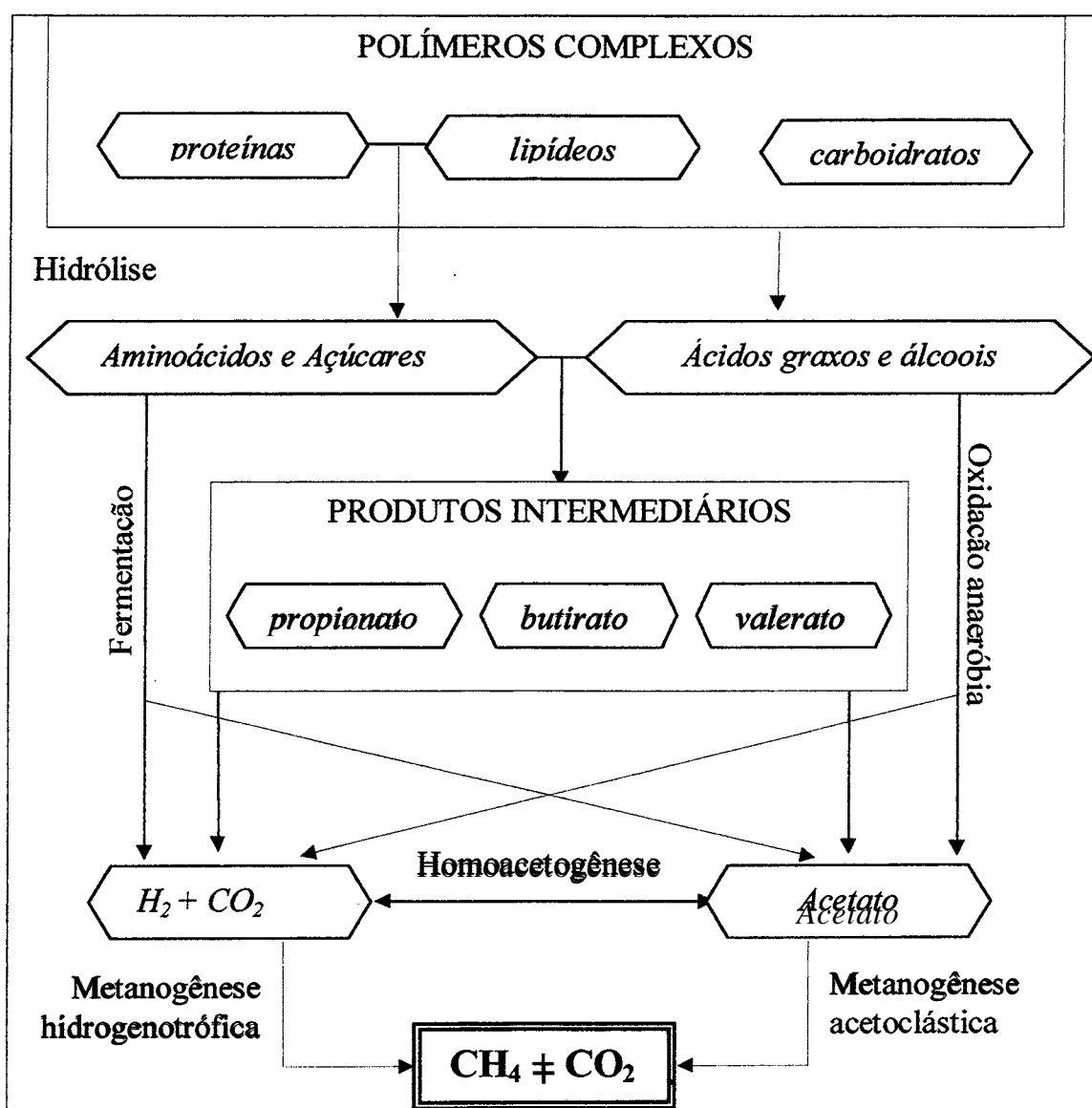


Figura 3.1. Principais passos metabólicos da biodegradação de substratos orgânicos em reatores anaeróbios (Gujer e Zehnder, 1983).

As bactérias não são capazes de assimilar macromoléculas intactas; precisam primeiro hidrolisá-las até monômeros ou pequenos oligômeros (Confer e Bruce, 1998). Estas substâncias solúveis são então convertidas em *ácidos graxos* através de reações de fermentação (acidogênese). Os microorganismos acetogênicos convertem estes *ácidos graxos* de peso molecular superior em ácido acético e hidrogênio (H^+ e H_2). O acetato, reconhecidamente o maior precursor de metanogênese, é formado a partir da fermentação dos ácidos propiônico e butírico e pela oxidação do hidrogênio. Estas duas reações envolvem diferentes populações acetogênicas (DeLorme e Kapuscinski, 1990).

Chun-Sheng *et al.* (1998) desenvolveram um modelo cinético envolvendo frações de bactérias acidogênicas e de metanogênicas. Este modelo foi empregado na determinação dos fluxos e taxas de reação bioquímicos para o substrato sacarose e seus intermediários (ácidos graxos voláteis) no líquido e no biofilme (Weiland e Rozzi, 1991). Seus resultados comprovam que a metanogênese é a etapa limitante da degradação de compostos orgânicos simples e que a concentração residual de matéria orgânica é basicamente relacionada com a presença de ácidos graxos voláteis.

3.3. Parâmetros de Controle de Reatores Anaeróbios

Para o controle operacional de reatores anaeróbios alguns parâmetros devem ser monitorados e controlados. A seguir os principais parâmetro são analisados.

3.3.1. Temperatura

Reatores anaeróbios de alta taxa são, em geral, operados na faixa de temperatura entre 25 e 40 °C. Entretanto, diversos autores tem estudado a possibilidade do uso desta tecnologia em faixas de temperatura abaixo de 20 °C (psicrofílica) e acima de 45 °C (termofílica), sob condições especiais. O efeito mais significativo é o da temperatura sobre a taxa de crescimento e atividade das bactérias metanogênicas (Van Lier *et al.*, 1997).

De acordo com Weigant (1986) a temperatura é um fator de extrema importância porque os microorganismos não possuem capacidade de regular a temperatura interna da célula. O mesmo autor afirma que os benefícios do processo termofílico incluem maior grau de remoção de organismos patogênicos no tratamento de esgotos domésticos.

Os mesmos processos microbiológicos ocorrem a 50-60 °C do que na faixa mesofílica (30 a 40 °C), e o acetato é o principal precursor de metano em ambas as faixas (Ahring, 1994). Segundo van Lier (1994) a atividade dos microorganismos é incrementada na faixa termofílica, especialmente nos casos onde os efluentes são descartados em elevadas temperaturas (celulose e papel, destilarias, indústrias de alimentos).

Sanz e Polanco (1990) apresentaram os resultados de estudos do tratamento de águas residuárias municipais empregando um reator anaeróbio de leito fluidizado na temperatura de 10 °C. Obtiveram resultados satisfatórios com relação à remoção de matéria orgânica mas encontraram problemas relativos à presença de excesso de sólidos em suspensão.

Van Lier *et al.*, 1997 mostraram que, em cada faixa de temperatura a atividade bacteriana aumenta exponencialmente com a temperatura. Este fenômeno é seguido de um decréscimo brusco em valores de temperatura imediatamente após a ótima. Em geral, as bactérias psicofílicas resultam em baixas taxas de conversão, enquanto que as termofílicas são caracterizadas pela alta atividade metabólica.

3.3.2. Alcalinidade e pH

Um dos problemas operacionais mais freqüentes em reatores anaeróbios é a acidificação ou azedamento do reator (Maragno e Campos 1992). Em função de variações de condições operacionais, ambientais e/ou de atividade metabólica, a taxa de produção de ácidos pode superar o consumo para a produção de metano. Como resultado, o pH tende a

diminuir. Se o pH atingir valores inferiores a 6,3 a taxa de produção de metano se torna muito baixa e a fermentação ácida irá dominar permanentemente o sistema.

O valor e a estabilidade do pH em reatores anaeróbios são governados pelo equilíbrio do sistema carbonato (van Haandel, 1994). O fator mais significativo com relação ao valor e à estabilidade do pH é se a alcalinidade presente no afluente somada à alcalinidade eventualmente formada durante a digestão serão suficientes para manter o valor do pH na faixa ótima, assegurando a operação estável.

Denac e colaboradores (1988) estudaram em escala de bancada um reator anaeróbio de leito fluidizado e sugerem que o consumo de alcalinidade pode ser uma variável de controle do processo já que a maior parte da DQO efluente é devida à presença de ácidos graxos.

Considerações de ordem termodinâmica indicam que a concentração de H_2 tem uma ação regulatória primária no intercâmbio metabólico que determina a formação de produtos finais reduzidos ou acetato. Baixas concentrações de hidrogênio permitem a formação de acetato, enquanto que em concentrações mais elevadas o equilíbrio é progressivamente deslocado para a formação de produtos finais mais reduzidos, tais como succinato, lactato, etanol e ácidos butírico e propiônico (Fynn *et al.*, 1988).

Tendo em vista que a atividade das bactérias metanogênicas é sensivelmente afetada pelo pH, este é um parâmetro crítico na partida e operação destes reatores. Para tanto é necessário equilíbrio entre a abundância da fonte de carbono ao mesmo tempo que o pH deve estar em torno da neutralidade. A adição de sais alcalinos (como carbonatos e bicarbonatos) bem como o controle do pH durante a partida são, em geral, procedimentos necessários quando a alcalinidade natural do efluente não é suficiente.

3.3.3. Carga Orgânica Aplicada

Reações microbiológicas são autocatalíticas, o que significa que em estado estacionário o catalisador para uma reação biológica será produzido em quantidade suficiente para não limitar a taxa de reação. Portanto, a concentração de substrato ou nutrientes será o limitante (Delorne e Kapuscinski, 1990). Em um sistema complexo como um reator anaeróbio (biocenose complexa) o tamanho de cada diferente grupo microbiano irá depender do fluxo do substrato correspondente no sistema (Gujer e Zehnder, 1983). Do ponto de vista microbiológico, a degradação da matéria orgânica é a fonte de energia para o metabolismo dos microorganismos (Salkinoja-Salonem *et al.*, 1983).

Entretanto, a taxa de aproveitamento da energia pelas bactérias anaeróbias é muito baixa, o que implica em uma baixa cinética de crescimento (Mathiot *et al.*, 1992). Desta forma, deve haver abundância de substrato (fonte de carbono) para que seja atingida a taxa de crescimento máxima da colônia de microorganismos.

A equação de Michaelis-Menten para a taxa de conversão em processos biológicos, Equação 3.1, mostra a dependência da velocidade da reação com a concentração de substrato. A Figura 3.2 mostra a representação gráfica desta relação (Fogler, 1992):

$$-r_s = \frac{\mu_{\text{máx}} \cdot [S]}{K_S + [S]} \quad \text{Equação 3.1}$$

Onde r_s = taxa de conversão do substrato

$\mu_{\text{máx}}$ = máxima taxa de conversão para uma dada concentração de microorganismos

K_S = constante de saturação

$[S]$ = C_s = concentração do substrato.

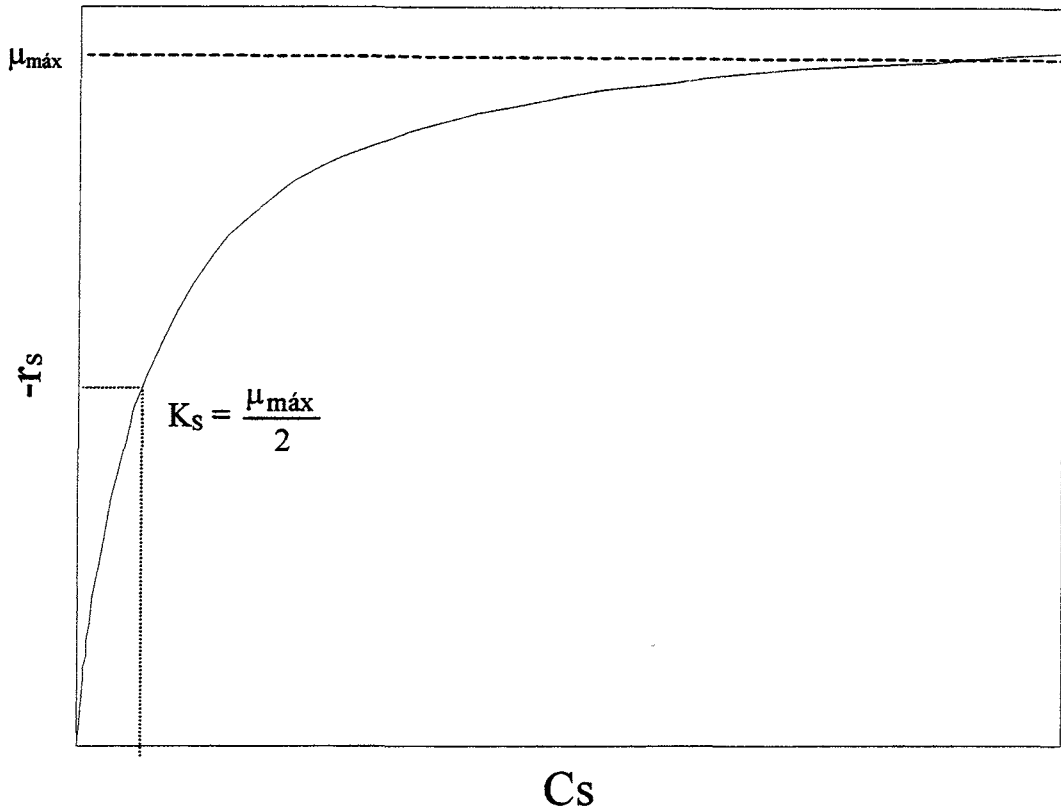


Figura 3.2. Representação gráfica da equação de Michaelis-Menten. C_s = concentração de substrato; r_s = taxa de reação, $K_s = \frac{1}{2} \mu_{\text{máx}}$.

Pode-se perceber que ao aumentar a concentração de substrato (C_s) a taxa de reação também aumenta, até que seja atingido o patamar da taxa máxima ($\mu_{\text{máx}}$). Entretanto, nos processos anaeróbios existe uma limitação em função de que o principal substrato é o acetato e, na ausência de alcalinidade suficiente, ocorre a formação preferencial de ácido acético, o que provoca a diminuição do pH do meio.

3.3.4. Atividade Metanogênica Específica (AME)

A atividade metanogênica específica (AME) é uma medida que avalia a capacidade de conversão de ácidos graxos voláteis aos produtos finais da digestão anaeróbia, gás

metano e gás carbônico, consistindo em informação de vital importância para controle operacional de reatores anaeróbios modernos, também designados reatores de alta taxa (Monteggia, 1997). A determinação da atividade metanogênica é realizada por um teste de laboratório em batelada, sob condições ambientais controladas. O resultado é calculado a partir da medição direta da taxa de produção de metano ou consumo de um substrato, por unidade de biomassa (SSV) e unidade de tempo (Monteggia, 1997).

3.4. Aderência de microorganismos a superfícies sólidas

A existência de uma estrutura de biofilme em um reator é benéfica com respeito à resistência contra substâncias tóxicas e materiais inertes no efluente e age como uma segurança contra a perda de biomassa (Enger e Heijnen, 1988). Os mecanismos que governam o desenvolvimento do biofilme sobre a superfície ainda não são suficientemente entendidos (Henze e Harremões, 1983).

O entendimento dos mecanismos de adesão de microorganismos à superfícies é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de partidas de reatores de crescimento em leito fixo (Fitch et al, 1999). Os principais fenômenos envolvidos devem ser estudados usando-se ferramentas tanto da bioquímica como da físico-química. Inicialmente, três definições úteis são apresentadas:

- Força de adesão: Segundo Rutter *et al.* (1984), a adesão microbiana pode ser definida em termos da energia envolvida na formação de uma junção adesiva. A força com a qual uma célula microbiana pode ser considerada “aderida” a um substrato pode ser quantificada como sendo o trabalho requerido para remover esta célula e levá-la de volta a seu estado inicial, isolada. É importante que a remoção da célula não tenha deixado fragmentos, tais como os biopolímeros e que a parede celular seja mantida intacta.
- Biofilme: Complexo consórcio de diferentes grupos de microorganismos aderidos com seus produtos extracelulares (biopolímeros). Assim, o biofilme pode ser considerado como

um gel polimérico orgânico com microorganismos vivos aprisionados nele, contendo 95% de água em sua composição.

- **Biopolímeros:** São polímeros extracelulares (polissacarídeos) produzidos como reserva de energia dos microorganismos, como material constituinte da parede celular e em camadas da cápsula extracelular. Os polissacarídeos são produzidos como reservas biológicas de energia, como material constituinte das paredes celulares e de camadas das cápsulas. A produção de polissacarídeos extracelulares é uma etapa crítica para a formação do glicocalix que rodeia as células em um biofilme (Bryers, 1993). Os exopolímeros são importantes nos fenômenos envolvendo biofilmes por pelo menos duas razões. Primeiro, a interação entre uma célula bacteriana e o substrato conduzindo à adesão irreversível é fortemente determinada pelas propriedades físicas das macromoléculas na superfície da célula (Derjaguin e Churaev, 1989). Os polímeros extracelulares são freqüentemente observados (por microscopia eletrônica) com sendo a matriz extracelular responsável pela integridade do biofilme. Nestes casos os polímeros aparecem como fibras condensadas que se estendem a partir da célula (Christensen e Characklis, 1990).

3.4.1. Mecanismos de Aderência

As bactérias são consideradas como partículas de tamanho coloidal recobertas por macromoléculas (biopolímeros). Para entender o papel dos polímeros extracelulares na adesão das bactérias a uma superfície, é necessário entender os fatores que controlam o comportamento do sistema macromoléculas/superfície/meio aquoso (Rauch et al, 1999).

Considerações teóricas e estudos realizados por microscopia eletrônica sugerem que os polímeros presentes na superfície das células podem contribuir na adesão das células às superfícies. Os princípios físico-químicos que explicam a adsorção não específica de polímeros à superfícies são intimamente relacionados com propriedades de soluções e géis.

Os microorganismos possuem a habilidade de interagir com superfícies sólidas em contato com o meio aquoso no qual vivem (Charaklis, 1984). A interação dá-se inicialmente via adesão entre os polímeros extracelulares e a superfície sólida onde operam as forças interfaciais (atração e repulsão eletrostática e/ou hidrofóbica, entre outras). Após a adesão ocorre o crescimento bacteriano e formação do biofilme. Desde o ponto de vista dinâmico ambas as etapas constituem o fenômeno de aderência (“*attachment*”) sendo que a primeira é a determinante do processo.

Uma suspensão bacteriana pode ser interpretada como um sistema coloidal vivo e os passos iniciais da adesão podem ser descritos pela físico-química de sistemas coloidais, tal como a teoria quantitativa da estabilidade de particulados, DLVO. Esta teoria aplica-se para sistemas dispersos por repulsão eletrostática de duplas camadas elétricas e relaciona estimativas das energias de atração, forças atrativas de curto alcance de London e de van der Waals e energia de repulsão, sobreposição das duplas camadas elétricas em termos das distâncias entre partículas, que neste caso é o sistema microorganismos/ superfície (Rutter *et al.*, 1984). Este modelo, baseado na teoria DLVO tem sido modificado após o reconhecimento da existência das forças hidrofóbicas, ou forças que envolvem o reconhecimento molecular entre as funções alquílicas (Pashley e Israelachvili, 1981).

A energia total de interação é obtida pela soma das energias de atração e repulsão, onde a energia de repulsão é uma função exponencial da distância entre as partículas e a energia de atração diminui com o inverso da distância entre as partículas. Conseqüentemente, dependendo do valor das componentes, as forças de London, de van der Waals e hidrofóbicas predominarão em distâncias curtas e longas, enquanto que a repulsão da dupla camada elétrica predominará em distâncias intermediárias.

Teoricamente, se a energia de aproximação das partículas exceder a barreira energética proporcionada pelo potencial de repulsão, elas estarão sob alcance das forças de atração, que permitirão a união das partículas. Esta energia pode ser imposta pela energia térmica do sistema, movimento Browniano (pericínético), ou através de agitação (ortocinético).

A membrana celular, constituída basicamente de fosfolipídios, apresenta características hidrofóbicas e carga superficial negativa. (Israelachvili, 1985). Estas propriedades atuam nos fenômenos de adsorção de íons com carga positiva, como os metais, e outras espécies por interações eletrostáticas, dando origem à primeira etapa de atração entre a superfície e as células bacterianas. A colonização de uma superfície por microorganismos ocorre de acordo com a seguinte seqüência (Charaklis, 1984; van Loosdrecht *et al.*, 1990):

i) Transporte de moléculas orgânicas e células microbianas até a superfície molhada. As bactérias podem alcançar a superfície de três maneiras diferentes:

- Transporte difusivo, onde as bactérias apresentam considerável movimento Browniano (deslocamento médio de $40 \mu\text{m.h}^{-1}$) que pode ser observado no microscópio. Este movimento contribui para o contato aleatório de células pequenas com superfícies e é responsável pelo cruzamento de qualquer camada difusiva. A camada difusiva é uma lâmina de espessura variável onde o fluxo de líquido é laminar e existe um gradiente de concentração de íons que varia desde a solução até a superfície sólida.
- Transporte convectivo das células, devido ao fluxo do líquido, pode ser mais rápido que o difusivo em várias ordens de grandeza, mas podem existir situações nas quais a etapa final do transporte (passagem através da subcamada de difusão) é controlada pela difusão.
- Movimento ativo, uma vez que uma bactéria móvel encontra-se próxima da superfície, ela pode alcançar a interface por acaso ou por afinidade química, devido à gradientes de concentração na região da interface.

ii) Adsorção das moléculas orgânicas à superfície molhada, resultando em uma superfície “condicionada”.

iii) Adesão inicial das células à superfície condicionada. Processo físico-químico, que pode ser reversível ou irreversível. Proposições de ordem prática podem ser usadas para definir a adesão reversível como a deposição da bactéria sobre a superfície na qual a bactéria continua a exibir movimento Browniano, podendo ser removida por uma força de atrito suave ou pelo próprio movimento bacteriano. As bactérias aderidas de forma irreversível não apresentam movimento Browniano e apenas podem ser removidas por uma força de cisalhamento grande (Kjelleberg, 1984).

A Figura 3.3 mostra uma representação esquemática dos passos envolvidos na colonização da superfície por microorganismos e formação do biofilme.

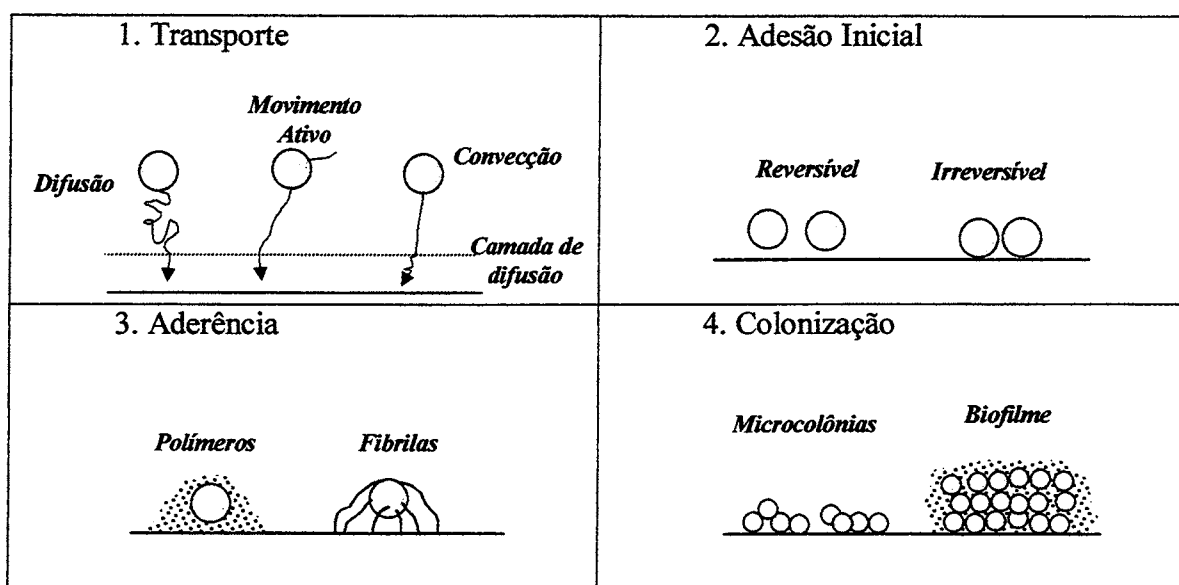


Figura 3.3. Representação esquemática dos passos envolvidos na colonização da superfície por microorganismos e formação do biofilme (van Loosdrecht *et al.*, 1990).

iv) Metabolismo das células aderidas, resultando em mais células e material extracelular. Após a adesão segue a etapa de crescimento do biofilme. Após a bactéria depositar-se sobre a superfície, estruturas celulares especiais (fibrilas e polímeros) formam ligações fortes entre a célula e a superfície sólida. Os polissacarídeos são essenciais nesta etapa de desenvolvimento de filmes superficiais, mas não na etapa inicial da adesão.

v) A última etapa da seqüência é a colonização da superfície. Quando as células estão firmemente aderidas à superfície elas começam a crescer e reproduzem-se. As células

novas permanecem aderidas umas às outras e então as microcolônias ou biofilmes começam a formar-se. As duas últimas etapas são mais dependentes do tipo de microorganismos que as iniciais;

vi) Desadesão de porções do biofilme.

3.4.2. Atividade Microbiológica em Interfaces

A adesão a uma superfície pode afetar a atividade de microorganismos, apesar de que o conhecimento atual não seja capaz de prever de que forma exatamente (Breznak, 1984). Desta forma, diversos autores reportam experimentos demonstrando a influência direta da presença de uma superfície sobre a taxa de crescimento de microorganismos, mas apenas um trabalho apresenta conclusões a respeito deste mecanismo (Ellwood *et al.*, apud van Loosdrecht, 1984). Este autor observou o aumento da densidade da população de *Pseudomonas sp.* Seus resultados mostraram que o crescimento da população foi significativamente maior para células imobilizadas em comparação com a cultura em suspensão, desconsiderando a adesão de novas células.

Para explicar este fenômeno, os autores sugerem que, de células crescendo em suspensão uma pequena porção de prótons eram difundidas para o meio. A presença de uma superfície sólida poderia obstruir a difusão destes prótons para fora da célula e, como consequência (i) aumentar a eficiência dos processos de membrana e (ii) criar uma superfície bacteriana com maior energia, especialmente nas cercanias da superfície sólida onde o transporte difusivo de prótons seria ainda mais reduzido.

Entretanto, van Loosdrecht *et al.* (1984) contestam esta teoria. A presença de superfícies pode afetar positiva ou negativamente (ou não afetar) a taxa de utilização de substrato e produção de biomassa. Os resultados dependem da natureza do organismo, tipo e concentração do substrato e natureza da superfície sólida. Ao interpretar o efeito das superfícies em processos de bioconversão todas as interações possíveis, físicas e químicas

(tais como difusão, adsorção e dessorção, reações de troca iônica, mudanças de conformação, etc.) de um componente e seus possíveis metabólitos com uma dada superfície devem ser considerados antes de que conclusões gerais possam ser definidas.

3.5. Características da Fluidização e Expansão de um Leito

Um leito expande-se quando a queda de pressão devido ao fluxo descendente do fluido através de um meio livre iguala-se à força de empuxo das partículas do leito (Comte *et al.*, 1997). Em comparação a um leito estacionário, a porosidade média de um leito móvel é incrementada e as partículas movimentam-se por ação do fluido que atravessa o leito.

A queda de pressão em um leito empacotado quando a velocidade de passagem do fluido aumenta é representada na Figura 3.4.

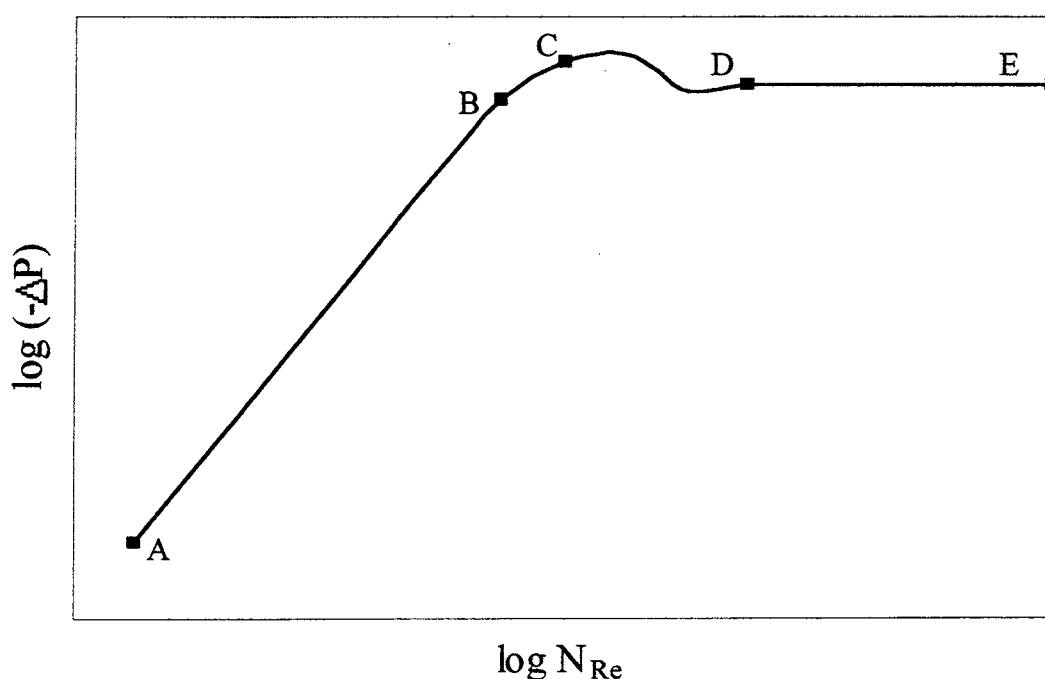


Figura 3.4. Fluidização de um leito de partículas sólidas. N_{Re} = Número de Reynolds; $-\Delta P$ = queda de pressão no leito.

Entre os pontos *A* e *B* o leito é estável e a queda de pressão é dada pela equação de Carman-Kozeny (Foust *et al.*, 1979). No ponto *B* essencialmente ocorre um equilíbrio no empuxo dos sólidos. Entre os pontos *B* e *C* o leito começa a ficar instável e as partículas ajustam sua posição de forma a apresentar menor resistência possível ao fluxo. No ponto *C* é obtida a maior porosidade com as partículas ainda em contato. A partir deste ponto, as partículas começam a mover-se livremente, mas ainda colidem com frequência.

O ponto *C* é conhecido como ponto de fluidização e a operação de um reator neste ponto caracteriza o leito expandido. No momento em que o ponto *D* é atingido, as partículas estão todas em movimento e a partir deste ponto um aumento na velocidade do fluido (ou no número de Reynolds, N_{Re}) resulta em acréscimos muito pequenos na queda de pressão porque o leito começa a expandir-se e as partículas movem-se independentes umas das outras, até que as partículas apresentem comportamento de fluido (ponto *E*).

Nos casos onde a diferença de massa específica entre as partículas e o fluido é pequena e, portanto, a vazão é baixa, o leito fluidiza-se plenamente, com cada partícula descrevendo uma trajetória independente. Esta é conhecida como fluidização particulada. Quando a diferença de densidades é alta ou o fluxo é elevado a fluidização não é uniforme e a fase fluida atua como bolhas que atravessam o leito sem contato com o sólido. Este é o fenômeno da fluidização agregativa.

Ainda, os leitos fluidizados podem apresentar consideráveis problemas de caminhos preferenciais e “*slugging*”, que é um fluxo intermitente e instável de grandes bolhas de gás através do leito. Ambos problemas são fortemente afetados pelo desenho do distribuidor do fluxo e de gás, em escala real.

A presença de fluidização particulada ou agregativa é a resultante da atuação das forças gravitacionais sobre as fases presentes no leito, bem como da mecânica de fluidos do sistema. Portanto, espera-se que um dos critérios de desenho seja o *número de Froude* ($N_{Fr} = v^2 / D_p \cdot g$), que é a razão entre a energia cinética e gravitacional. Como regra prática,

para que um leito comporte-se como fluidização particulada a seguinte relação deve ser satisfeita:

$$(N_{Fr}).(N_{Re}).[(\rho_l - \rho_p)/\rho].(L/D) < 100 \quad \text{Equação 3.2}$$

onde ρ = massa específica do fluido; ρ_p = massa específica das partículas, D_p = diâmetro médio das partículas; D = diâmetro da coluna. N_{Re} , N_{Fr} e L (altura do leito) devem ser aqueles do ponto de fluidização mínima (ponto C, Figura 3.4). No caso de que a Equação 3.2 > 100 , tem-se fluidização agregativa.

Com base nestas relações, podem ser feitas as considerações preliminares para o dimensionamento do leito. A expansão ideal do leito depende do difusor do fluido, da razão de recirculação e do diâmetro do leito e é difícil de ser determinada experimentalmente. As equações existentes para a estimativa de expansão para a fluidização particulada não levam em conta os efeitos de parede, os curtos circuitos e as zonas mortas. Ao projetar um leito fluidizado deve-se considerar não apenas uma expansão da altura, mas também um espaço adequado no fundo da coluna para permitir a separação sólido-líquido.

Este fator depende também das características do sistema partículas-fluido e expressões matemáticas ainda não foram adequadamente desenvolvidas (Steyer et al, 1999). Existem correlações empíricas para se determinar a altura da zona de separação em função da velocidade do fluido e do diâmetro do leito.

Adicionalmente, existe o fator de crescimento de biofilme na superfície das partículas do leito. A massa específica do sistema partícula-biofilme é variável, de acordo com a espessura do biofilme (Hermanowicz e Cheng, 1988). Entretanto, espera-se obter um biofilme não muito espesso em função do cisalhamento na interface sólido-líquido, sendo assim a densidade do agregado não deverá ser muito diferente à da partícula.

3.6. Processos Anaeróbios de Crescimento em Leito Fixo

Os primeiros reatores anaeróbios de leito fixo foram desenvolvidos em 1968 por Young e McCarty (Hickey *et al.*, 1991) e têm-se mostrado uma tecnologia avançada que pode ser usada eficientemente no tratamento de uma variedade de águas residuárias industriais. Algumas variações vem sendo desenvolvidas, incluindo reatores de leitos completamente recheados de fluxo ascendente, reatores híbridos de fluxo ascendente, reatores de fluxo descendente e reatores de leito fluidizado. Segundo Bordacs e Young (1997), estes processos são mais adequados para o tratamento de águas residuárias contendo concentrações de DQO superiores a 3000 mg.L⁻¹.

Reatores de crescimento em leito fixo são basicamente processos de contato nos quais a matéria orgânica solubilizada passa sobre ou através de uma massa de sólidos biológicos contidos no reator, aderidos a uma superfície ou matriz, na forma de um biofilme (Furumai *et al.*, 1991). Compostos orgânicos solúveis nas proximidades desta biomassa se difundem pela superfície do biofilme, onde sofrem os processos de conversão mencionado.

A limitação na etapa de difusão é um problema que afeta a maioria dos processos em função da baixa velocidade na interface sólido/líquido (Buffière *et al.*, 1998). Com fluxo laminar, ocorre a formação de uma camada na qual o gradiente de concentração é baixo, prejudicando o transporte difusivo. Nos reatores de leito fluidizado a velocidade é mais elevada e esta camada é reduzida.

A Tabela 3.3, adaptada de Bordacs e Young (1997), mostra um resumo das principais características dos diversos processos anaeróbios de crescimento em leito fixo, em comparação com o reator de manto de lodos de fluxo ascendente (UASB).

Tabela 3.3. Resumo de parâmetros de operação e desenho para processos anaeróbios de leito fixo para o tratamento de efluentes líquidos. Bordacs e Young (1997).

<i>Processo</i>	<i>Carga orgânica</i> ¹	<i>Taxa F/M</i> ²	<i>TRS</i> ³	<i>Remoção de DQO</i> ⁵
Filtro anaeróbio (fluxo ascendente)	4-8	0,5-1	30-100	80-90
Filtro anaeróbio híbrido (fluxo ascendente)	8-12	0,5-1	50-200	85-98
Sistemas de dois estágios	8-12	0,5-1	80-300	85-98
Filtro anaeróbio (fluxo descendente)	2-6	0,3-0,5	20-30	70-90
Leito fluidizado	12-16	0,5-1	20-30	80-90
UASB	8-12	0,5-1	30-50	80-95

1= kgDQO/m³d⁻¹; 2= kg DQO/kgSSV; 3= tempo de residência dos sólidos, dias; 4= mg.L⁻¹; 5 = %

A partida de um reator é o período de tempo requerido para um reator atingir uma capacidade de tratamento de uma dada carga orgânica, com a eficiência desejada (Yee e Shieh, 1988). Este é um dos problemas operacionais mais comuns em reatores anaeróbios de crescimento leito fixo e este período pode estender-se por meses (He e Ping, 1994).

As dificuldades na partida dos reatores de leito fluidizado estão diretamente relacionadas com os seguintes fatores (Bonnet *et al.*, 1997):

- cinética lenta de desenvolvimento do biofilme: deve haver a maior disponibilidade de substrato possível, sem que ocorra a acidificação do reator;
- arraste na interface sólido líquido na etapa de adesão: a velocidade na etapa de partida deve ser baixa pois na etapa inicial de adesão as forças envolvidas são relativamente fracas, a aderência do biofilme ainda não foi atingida.

3.7. Técnicas Microscópicas para Análise dos Biofilmes

A importância de elucidar as dimensões e o arranjo espacial dos biofilmes, incluindo a distribuição e a composição dos microrganismos na matriz do biofilme, é essencial para o entendimento das funções do biofilme e por isso uma ampla faixa de técnicas microscópicas tem sido utilizadas para este fim. A microscopia ótica (ex. luz transmitida, epifluorescência, microscopia de contraste e a microscopia laser confocal de varredura), microscopia eletrônica tais como o de transmissão, de varredura e microscopia de varredura ambiental e recentemente a microscopia de força atômica (AFM), têm-se mostrado muito úteis no estudo da estrutura de biofilmes e o seu desenvolvimento.

Cada uma destas técnicas oferece um grau diferente de sensibilidade e poder de resolução, permitindo uma imagem da aparência total e características específicas do biofilme, tais como colônias e células individuais, o material polimérico extracelular (EPS) (aderido às células ou não), às vezes denominado de glicocalix ou limo, e a presença e natureza (cristalinidade ou amorfo) de produtos inorgânicos no biofilme (Salkinoja-Salonem *et al.*, 1983).

3.7.1. Microscopia Eletrônica de Varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é um dos instrumentos mais versáteis disponíveis para a análise de características da microestrutura de materiais sólidos, em função da elevada resolução obtida, na ordem de 5 nm, podendo em instrumentos mais sofisticados chegar a 2,5 nm. de que e (Goldstein, 1981). Outro aspecto importante é a aparência tridimensional obtida, em função da elevada profundidade de campo. A profundidade de campo é a distância acima e abaixo do foco ótimo que confunde um quantidade suficiente de elementos para que a imagem seja considerada fora de foco.

Os componentes básicos de um microscópio eletrônico de varredura são as lentes, o emissor de elétrons, o receptor de elétrons, os tubos de raios catódicos e os dispositivos

eletrônicos associados para a visualização da imagem. O primeiro trabalho reconhecido descrevendo a construção de um microscópio eletrônico de varredura foi publicado em 1938 por von Ardenne, mas o primeiro microscópio foi comercializado com sucesso em somente 1965 e, desde então, vem sofrendo inúmeras modificações no sentido de sua otimização. A obtenção das imagens no MEV consiste na varredura no espaço X-Y, identificando um conjunto de intensidades correspondentes a cada ponto (*pixel*), usado para medir a interação elétron-amostra. Esta informação é disponibilizada para a visualização através da varredura em linhas ou em áreas (Goldstein, 1981).

Diferentes formas de microscopia tem sido utilizadas para visualizar biofilmes associados com superfícies biológicas e não biológicas. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) convencional requer a fixação de amostras em glutaraldeído e/ou tetróxido de ósmio, seguido de um processo de desidratação usando a secagem através do ponto crítico com CO₂ líquido ou em uma série de soluções alcoólicas, e revestimento (sputtering) com material metálico condutor, usualmente ouro, paládio, ou carbono. Tal procedimento pode provocar distorção considerável da amostra (Salkinoja-Salonem *et al.*, 1983). O passo da desidratação pode, por exemplo, produzir um enrugamento significativo devido à destruição da matriz de EPS altamente hidratado (Fisher *et al.*, 1988).

3.7.2. Microscopia de Força Atômica

O microscópio de força atômica, desenvolvido em 1986 por Binnig, Quade e Gerber, é parte integrante da microscopia com elemento sensor de varredura, na qual um elemento sensor varre a superfície da amostra, permitindo a análise das interações entre a ponta e o material amostrado. o microscópio de força atômica MFA está redefinindo o conceito de microscopia, fazendo crescer a família dos microscópios de força (Binnig *et al.*, 1986). Existem três tipos de microscópios de força atômica: Modo MFA Contato, Modo MFA Não Contato e Modo MFA Descontínuo.

O MFA varre a superfície da amostra com uma ponteira pontiaguda (poucos microns de comprimento e menos de 1 Å em diâmetro) conectada ao *cantilever*. As imagens são obtidas pela medida da interação de forças entre a ponteira e a superfície da amostra, colocada em um scanner (x, y, z). De acordo com Yalamanchili *et al.* (1998), com isolamento acústico e vibracional apropriado, a resolução lateral do MFA pode ser em nível de subnanômetros e a resolução vertical (z) pode ser tão alta quanto poucos Å. Finalmente, as deflexões medidas pelo *cantilever* permitem ao computador gerar um mapa topográfico da superfície e diagramas de distância de forças.

Neste trabalho, foi empregado o modo MFA Contato (Contact AFM). Este modo opera através da varredura da superfície da amostra por um elemento sensor preso à extremidade do *cantilever*, onde as alterações são monitoradas pela deflexão do *cantilever*. A fonte de realimentação mantém uma deflexão constante entre o *cantilever* e a amostra através do movimento vertical do *scanner* a cada ponto (x, y). O MFA possui resolução extremamente alta para a obtenção de imagens de superfície das amostras; magnificação quantitativa em 3 dimensões, permitindo que a profundidade seja prontamente medida; capacidade de obter imagens tanto em sólidos como em meio aquoso; e requisitos simples para preparo de amostras, permitindo o uso para análises de rotina.

Tabela 3.4. Vantagens e desvantagens da microscopia de força atômica de contato. Adaptado de Yalamanchili *et al.*, 1998.

Vantagens:	Desvantagens:
<ul style="list-style-type: none"> • Alta velocidade de varredura; • É a única técnica MFA em que se obtém imagens com “resolução atômica”; • Amostras com alta rugosidade na topografia podem, em alguns casos, sofrer varredura com maior facilidade. 	<ul style="list-style-type: none"> • Forças laterais podem distorcer partes da imagem; • As forças normais à interação ponteira-amostra podem ser altas no ar devido às forças capilares da camada do líquido adsorvido na superfície da amostra. • A combinação das forças laterais e altas forças normais podem resultar na redução da resolução espacial e podem danificar amostras não rígidas (amostras biológicas, polímeros, silicone) devido ao contato entre a ponteira e a amostra.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental do Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul no período entre maio e novembro de 2000. Os reatores foram projetados e construídos com o apoio da empresa Tratef S.A. (Novo Hamburgo, RS), ao longo do mês de abril de 2000. Os passos iniciais foram:

- seleção e caracterização do material suporte;
- determinação dos parâmetros hidrodinâmicos iniciais (taxa de expansão do leito, velocidade superficial, número de Reynolds, entre outros);
- projeto e montagem dos reatores;
- partida e operação dos reatores.

4.1. Seleção e Caracterização do Material Suporte

As características procuradas no material suporte selecionado foram as seguintes:

- distribuição homogênea (estreita) de tamanho de partículas (elevado coeficiente de uniformidade) porque evita a estratificação do leito e melhora as características de mistura;
- presença de rugosidade superficial, que permite maior superfície disponível para a adesão de microorganismos e maior energia livre superficial;
- massa específica inferior à da água, para que a fluidização inversa seja possível;
- estabilidade química e física;
- disponibilidade e baixo custo.

4.1.1. Características do Material Suporte

Dentro destas condições básicas, foram selecionados dois materiais:

Etileno vinil acetato (EVA): Aparas de solados de calçados (EVA) constituem resíduos que, somente no Vale dos Sinos (RS), somam ao redor de 400 mil toneladas mensais. De acordo com as especificações do fabricante (Franca S.A.) a densidade aparente deste material é de 0,23, apresenta uma granulometria relativamente uniforme, variando entre 1 e 7 mm de diâmetro e é resistente a ataques microbiológicos. A forma das partículas é irregular o que proporciona uma elevada superfície para a adesão de microorganismos.

Polipropileno (PP): As partículas de polipropileno extrudado (OPP Petroquímica) foram selecionadas em função das características geométricas tais como uniformidade e distribuição de tamanho de partículas e densidade aparente de 0,91 e densidade “bulk” de 0,5. A forma das partículas é aproximadamente cilíndrica, com distribuição granulométrica uniforme, em torno de 4 mm. O PP é um produto que serve de matéria prima na indústria de plásticos e seu custo fica em torno de R\$ 90/tonelada. Em comparação com materiais atualmente empregados como recheio de reatores biológicos, o emprego deste material é viável.

4.1.2. Ensaio em Batelada de Crescimento de Biofilme

Com a finalidade de verificar a estabilidade biológica dos dois materiais foram realizados ensaios em batelada. Amostras do material suporte foram inoculadas com o lodo proveniente de um reator UASB de laboratório, alimentado com sacarose. Estes ensaios foram conduzidos no Laboratório de Corrosão Induzida por Biofilmes, do PPGEM (UFRGS), de acordo com metodologia descrita por Englert (1997). Foi empregado o meio de cultura Postgate, constituído de uma solução aquosa contendo KH_2PO_4 (0,5 mg.L^{-1}), NH_4Cl (1,0 mg.L^{-1}), CaSO_4 (1,0 mg.L^{-1}), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (2,0 mg.L^{-1}), lactato de sódio (3,5

mg.L⁻¹), extrato de levedura (1000 mg.L⁻¹), tioglicolato de sódio (100 mg.L⁻¹), sulfato ferroso (0,5 mg.L⁻¹). O pH resultante foi 7,5 e a temperatura mantida em estufa a 32 °C.

4.2. Projeto e Montagem dos Reatores Anaeróbios de Leito Fluidizado Inverso

O dimensionamento do sistema de fluidização inversa para a digestão anaeróbia baseado na engenharia de reatores encontra-se em fase de pesquisa já que esta é uma tecnologia em desenvolvimento. Sendo assim, o projeto do reator foi feito com base em escassas recomendações encontradas na literatura, tais como razão $L/D > 10$ e velocidade superficial máxima admissível para o crescimento do biofilme de 48 m.h⁻¹ (Marín *et al.*, 1999; García-Bernet *et al.*, 1998; Karamanev e Nikolov, 1992; Karamanev e Nikolov, 1996; Ibrahim, *et al.* 1996).

A razão de recirculação foi determinada experimentalmente, de acordo com o comportamento hidrodinâmico das partículas do leito suporte, em função da velocidade necessária para o movimento do leito. A potência requerida para as bombas foi determinada de acordo com a velocidade terminal teórica (U_t) das partículas, calculada conforme descrito a seguir.

4.2.1. Cálculo dos Parâmetros Hidrodinâmicos

Os parâmetros hidrodinâmicos foram calculados para ambos os materiais usando as seguintes relações (Fan *et al.*, 1992).

A velocidade terminal das partículas para esferas rígidas, é:

$$U_t = \sqrt{\frac{4(\rho_p - \rho_l) \cdot g \cdot d^2}{3\rho_l \cdot C_D}}, \quad \text{Equação 4.1}$$

onde C_D é coeficiente de arraste das partículas. Partículas ascendentes possuem comportamento, trajetória, coeficiente de cisalhamento e velocidade terminal diferentes das partículas em queda livre, para Re acima de 130. De acordo com Karamanev e Nikolov (1996) a partir deste valor de Re o C_d é constante, em torno de 0,90, sendo maior do que para as partículas descendentes.

O número de Reynolds de partícula é dado por:

$$Re_p = \frac{dU\rho_l}{\mu}, \quad \text{Equação 4.2}$$

onde U é a velocidade superficial da fase líquida, dada pela razão entre a vazão da fase contínua (Q) e a área da seção transversal do leito sem recheio (S):

$$U = \frac{Q}{S} \quad \text{Equação 4.3}$$

O número de Reynolds terminal foi calculado usando a velocidade terminal das partículas (Equação 4.1):

$$Re_t = \frac{dU_t\rho_l}{\mu} \quad \text{Equação 4.4}$$

Número de Arquimedes, que representa o balanço das forças gravitacionais e de empuxo do sistema e é empregado no cálculo do fator de atrito, é dado por:

$$Ar = \frac{d^3 g (\rho_l - \rho_p) \rho_l}{\mu^2} \quad \text{Equação 4.5}$$

4.2.2. Características dos Reatores

Com base nos parâmetros hidrodinâmicos calculados foram projetados e construídos dois reatores de leito fluidizado inverso em acrílico, com diâmetro interno $D = 0,15$ m e altura de 2,0 m (Figura 4.1). Bombas dosadoras (Watson Marlow, Mod. 101U) foram empregadas para a alimentação e bombas centrífugas (0,5 CV) para a recirculação da fase líquida conectadas a um inversor de frequência (Marca WEG), usado para a variação da rotação das bombas.

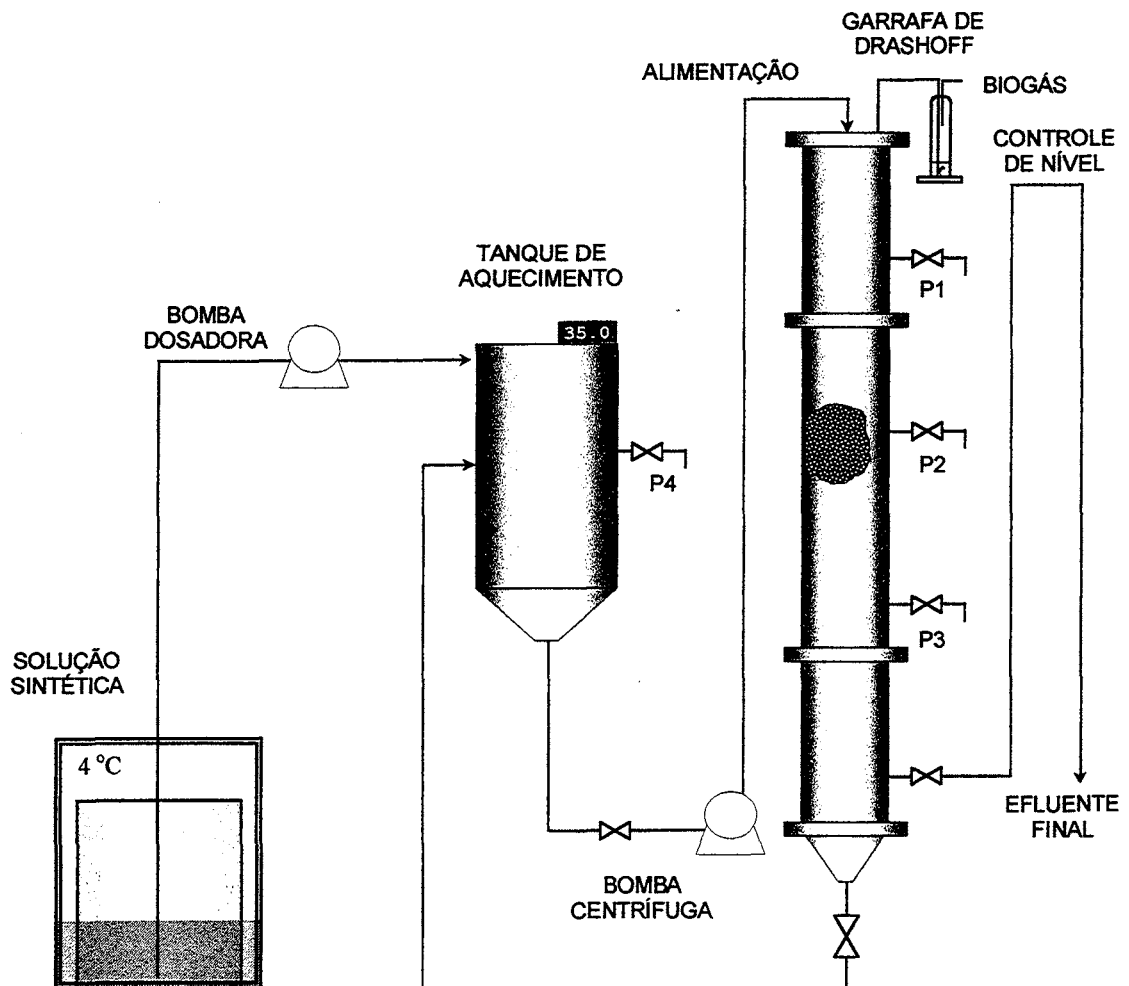
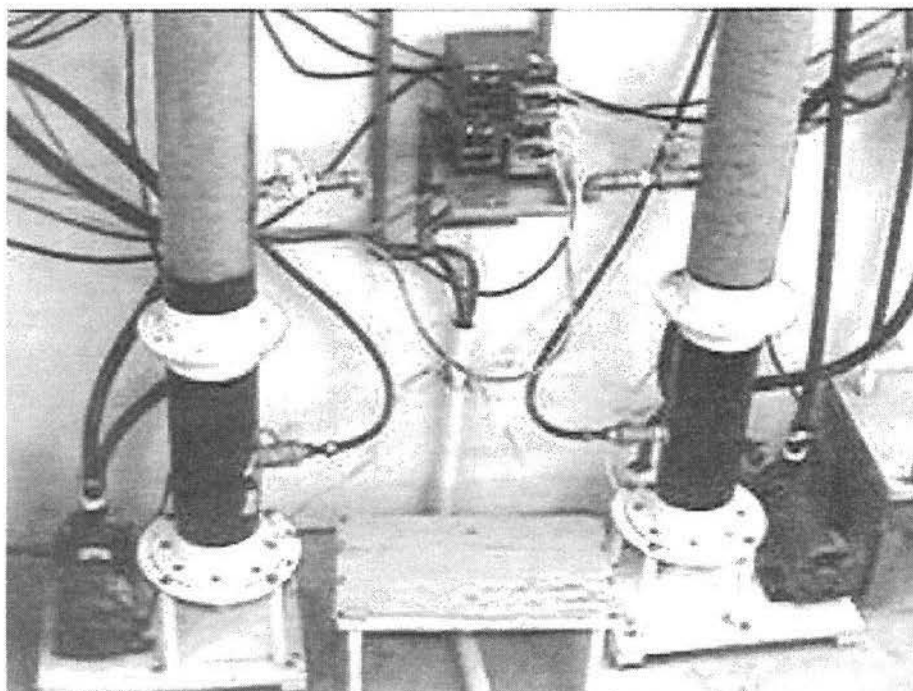


Figura 4.1. Diagrama esquemático dos reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso. P1, P2, P3 e P4 são os pontos de amostragem do reator.

4.2.3. Ajuste dos Parâmetros Hidrodinâmicos

Mangueiras plásticas transparentes e flexíveis foram empregadas para a conexão das bombas ao reator. O efluente líquido foi descarregado na rede de esgotos continuamente através de uma saída disposta na parte inferior da coluna, conectada a um tubo controlador do nível do líquido. O biogás coletado no topo da coluna passava por uma garrafa de Drashoff de 250 mL de volume contendo aproximadamente 5 cm de água antes de ser lançado à atmosfera. O objetivo desta garrafa foi a manutenção de um selo hidráulico com pressão relativamente constante, garantindo as condições anaeróbias no reator.

Na etapa de ajuste dos parâmetros hidrodinâmicos foi avaliada a viabilidade hidrodinâmica do uso de cada material suporte, bem como suas características de expansão/fluidização. Inicialmente cada reator foi recheado com um volume equivalente à altura de 47 cm de coluna ($V = 8306 \text{ cm}^3$) com cada material suporte (EVA e PP). O volume remanescente foi completado com água da torneira e a bomba de recirculação foi ligada, testando-se diferentes graus de expansão. As fotografias a seguir mostram os reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso em operação.



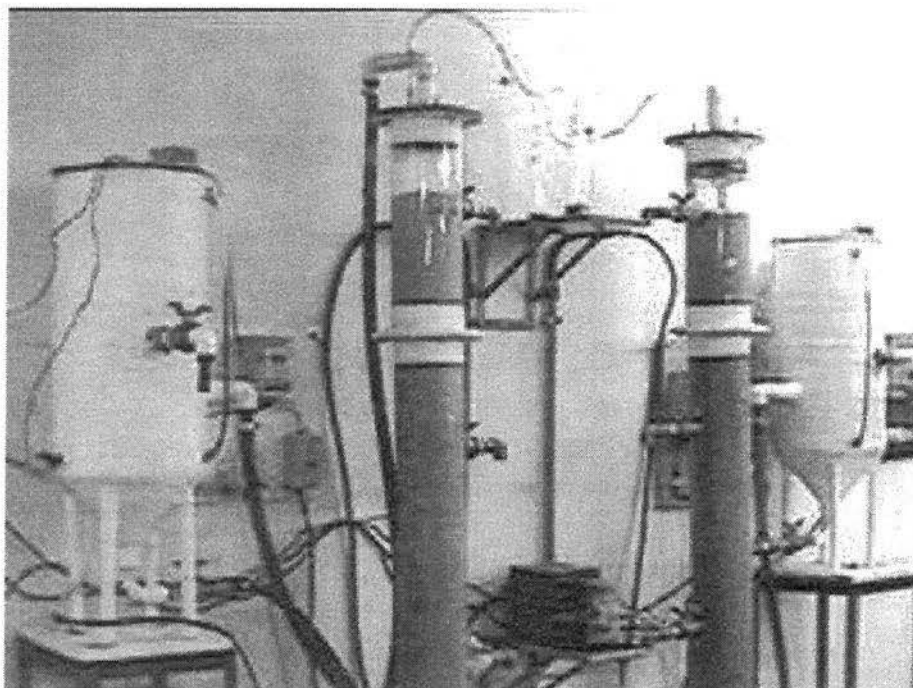


Figura 4.2. Reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso em operação.

O controle de nível foi ajustado. Imediatamente constatou-se que o uso do EVA na granulometria testada é inviável, principalmente em função de sua baixíssima densidade aparente, causando uma elevada perda de carga e exigindo vazões de recirculação muito altas para a expansão do leito. A partir de então, optou-se pelo emprego do polipropileno como único material suporte estudado neste trabalho.

4.3. Partida e Operação dos Reatores

O experimento foi composto por módulos de duração variada, definidos a partir dada avaliação constante dos dados obtidos. Em resumo, foram variados o grau de expansão, a carga orgânica aplicada e o tipo de substrato, sacarose ou etanol.

Os dois reatores de leito expandido, com 35 L cada, foram operados continuamente. A temperatura foi mantida em $35 \pm 0,5$ °C por uma resistência de 500 W controlada por um

termostato digital (Fullgauge, modelo MT511R). A expansão do leito foi viabilizada pela recirculação do efluente.

Os reatores foram alimentados com uma solução sintética, mantida refrigerada a 4°C, contendo concentrações crescentes de sacarose, bicarbonato de sódio, cloreto de amônio, extrato de levedura, fosfato trissódico e sulfeto de sódio (Silveira, 2000). A proporção dos reagentes foi (1) sacarose (ou etanol): (1) bicarbonato de sódio: (0,17) cloreto de amônio: (0,05) extrato de levedura: (0,44) fosfato trissódico. Foi também adicionado sulfeto de sódio (57 ppm) para a remoção do oxigênio dissolvido pela oxidação do sulfeto. Todos os componentes foram adequadamente dissolvidos, resultando em uma solução isenta de sólidos em suspensão.

Os reatores foram preenchidos com água da rede contendo sulfeto de sódio para a desoxigenação da água. O oxigênio dissolvido (OD) foi medido por potenciometria até que atingisse valores próximos a zero. Esperou-se que o sistema atingisse o equilíbrio térmico, a 35 °C para iniciar a inoculação. O lodo biológico proveniente de um reator UASB em escala de bancada, alimentado com uma solução sintética similar e aclimatizado a 35 °C em uma estufa, foi adicionado semanalmente ao reator na concentração de 10% v/v desde o início da operação até a identificação de estado estacionário. O tempo de detenção hidráulico, constante, foi de 24 h. O tempo de detenção dos sólidos em suspensão foi, portanto de 24 h, reduzindo as possibilidades de permanência de biomassa ativa não aderida (Ehlinger *et al.*, 1989).

Os experimentos iniciaram com uma carga orgânica baixa, em torno de 0,4 kg DQO.m⁻³.d⁻¹ (DQO_{afiuente} = 600 mg.L⁻¹), aumentando-se gradualmente em degraus de 30%, até atingir valores em torno de 6 kg DQO.m⁻³.d⁻¹. O critério para os intervalos entre cada incremento na carga foi a estabilização do pH do meio. Este procedimento visou evitar a acidificação dos reatores devido ao excesso de substrato.

4.3.1. Análise da Evolução da Partida: Parâmetros de Controle e Avaliação da Eficiência do Processo

As variáveis de controle do processo foram temperatura, pH, potencial redox, alcalinidade, produção de ácidos graxos, composição do biogás e remoção da matéria orgânica, indicada expressa em valores de DQO de entrada e saída do reator. A Tabela 4.1 resume a rotina de análises e o método empregado.

Tabela 4.1. Análises empregadas para o monitoramento do desempenho do processo.

<i>Parâmetro</i>	<i>Método</i> (<i>APHA, AWWA, 1985</i>)	<i>Frequência</i>
pH	Potenciometria	Diária
Potencial redox	Potenciometria	Diária
Alcalinidade	Titulometria	2 vezes por semana
DQO	Refluxo fechado e Titulometria	2 vezes por semana

As análises de ácidos graxos voláteis foram realizadas 2 vezes por semana, por cromatografia gasosa, em um cromatógrafo Varian 3700, coluna 60/80 Carbowax 20M/0,1% H₃PO₄, detector FID, com gás de arraste Hélio. A metodologia empregada foi adaptada por técnicos do IPH-UFRGS. As amostras foram acidificadas (pH =2) usando ácido fórmico e filtradas com membrana com diâmetro de poro = 0,45 µm.

4.4. Atividade Metanogênica Específica (AME)

Os testes de AME foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Monteggia (1991, 1997). A rotina empregada é descrita a seguir:

- adição do volume requerido de lodo anaeróbio (ou material suporte) a ser testado e água de diluição para obter uma concentração desejada de sólidos suspensos voláteis;

- purga de eventuais traços de oxigênio contidos no “mixed liquor” (lodo + água de diluição) e substituição do volume de ar atmosférico remanescente na parte superior dos frascos de digestão com gás nitrogênio;
- ajuste da temperatura para 35° C, usando um banho termostático;
- aclimatização do lodo biológico às condições do ensaio por 12 horas,
- injeção do substrato (acetato de sódio ou etanol, 2 g.L⁻¹)

O início do teste foi considerado logo após a injeção do alimento. O final do teste foi caracterizado por um decréscimo brusco na produção de biogás, devido ao consumo quase total do alimento injetado. Ao final do teste, amostras da mistura lodo e água de diluição foram analisadas para determinação de pH e sólidos suspensos voláteis. A medição da composição do biogás não foi possível devido à problemas com o cromatógrafo.

Em função da presença do material suporte flutuante, os ensaios de AME exigiram cuidados adicionais. O sistema de agitação não foi capaz de promover a mistura adequada do material suporte flutuante com o meio líquido contendo os nutrientes. Observou-se o cuidado para que o tamponamento fosse suficiente, evitando acidificação provocada pela redução de volume útil.

4.5. Monitoramento do Crescimento do Biofilme por Microscopia Eletrônica de Varredura

Foram coletadas amostras do material suporte nos diferentes pontos de coleta dos reatores. A frequência de amostragem variou ao longo do experimento. Nos primeiros dias, foram coletadas amostras a cada hora, chegando-se até uma frequência quinzenal no fim do experimento, de acordo com as variações macroscópicas observadas.

4.5.1. Preparação das Amostras

Amostras do material suporte (entre 3 e 5 unidades) foram coletadas, lavadas com solução tampão de fosfato, fixadas em uma solução 1% v/v de glutaraldeído 98% (Merck) e preparadas para microscopia eletrônica de varredura por desidratação em uma série graduada (50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 100%) de etanol P.A. (Merck) seguidas de acetona P.A. (Merck), de acordo com metodologia descrita por Englert (1997).

O tempo mínimo de desidratação em cada concentração foi de 20 minutos. Após a desidratação, as amostras foram fixadas em suportes de alumínio usando cola prata ou fita de carbono, para permitir uma contato elétrico adequado. As amostras foram metalizadas com ouro (*gold sputtering*), durante 60 segundos (Metalizador Balzers Union SCD040). A Figura 4.3 mostra uma amostra desidratada e metalizada, preparada para a análise por microscopia eletrônica de varredura, marca Philips XL20 (até 30 kV).

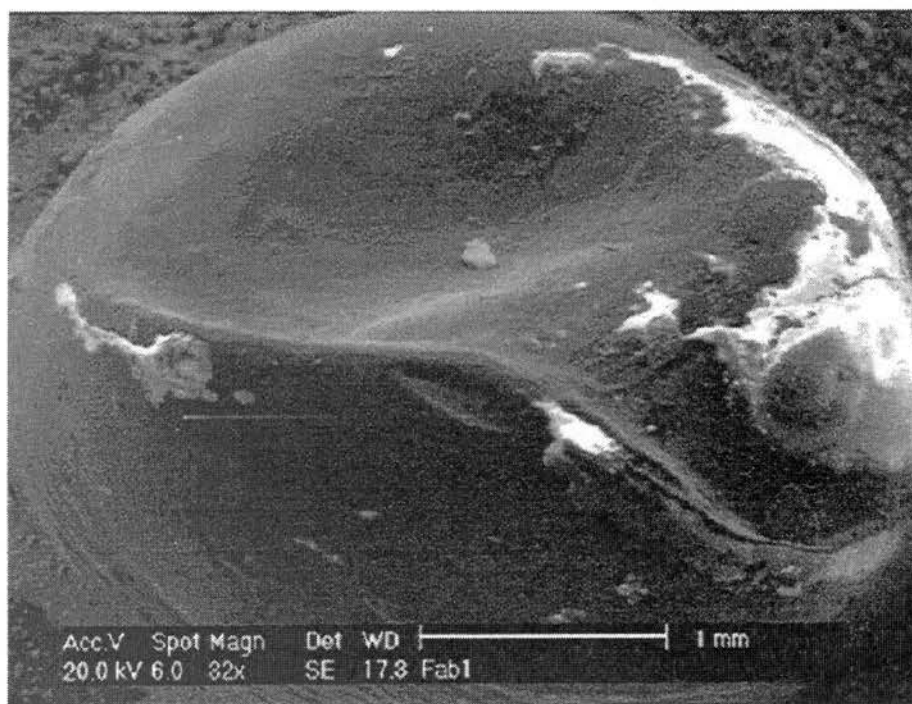


Figura 4.3. Amostra de polipropileno contendo biofilme após preparação para o microscópio eletrônico de varredura (fixação, desidratação e metalização).

4.5.2. Caracterização Morfológica das Bactérias Metanogênicas

As bactérias produtoras de metano formam um grupo específico, de fisiologia única, distintas das eubacterias, sendo classificadas em um reino separado denominado Archaeobacteria. (Zinder, 1988). Alguns gêneros podem ser identificados por sua morfologia (Tabela 4.2). Usualmente, são identificadas formas similares às bactérias metanogênicas, sendo necessária larga experiência para que se possa afirmar com precisão quais as espécies presentes.

Tabela 4.2. Características de alguns gêneros conhecidos de bactérias metanogênicas (Modificado de Holt *et al.*, 1994).

Gênero	Substrato	Morfologia
<i>Methanobrevibacter</i>	H ₂ + CO ₂ e Formiato	Pequenos bastonetes
<i>Methnocorpusculum</i>	H ₂ + CO ₂ e Formiato	Plana
<i>Methanoculleus</i>	H ₂ + CO ₂ e Formiato	Plana
<i>Methanospirillum</i>	H ₂ + CO ₂ Formiato	Espiral
<i>Methanosarcina sp.</i>	H ₂ + CO ₂ Acetato, Metanol, Metilaminas	Cocos irregulares e muito pequenos (formam agregados)
<i>Methanotrix sp.</i>	Acetato	Bastonetes encapsulados com bordas planas bem definidas

4.6. Análise da Superfície Colonizada por Microscopia de Força Atômica

A análise da superfície colonizada por microscopia de força atômica foi realizada na University of Nevada-Reno – USA. Empregou-se um Nanoscope, no modo de Contato. A técnica de microscopia de força atômica não exige a desidratação da amostra.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir são apresentados e discutidos os resultados obtidos na etapa experimental deste trabalho.

5.1. Estudo das Características Físicas dos Reatores

O estudo das características físicas dos reatores incluiu a identificação de parâmetros físicos e avaliação do comportamento hidrodinâmico dos materiais suporte, bem como da hidrodinâmica do sistema.

5.1.1. Características do Material Suporte

O EVA apresenta uma superfície significativamente mais rugosa e porosa em função do processo de expansão sofrido pelo material na fabricação. O polipropileno apresenta regiões mais rugosas e outras mais lisas (Figura 5.1).

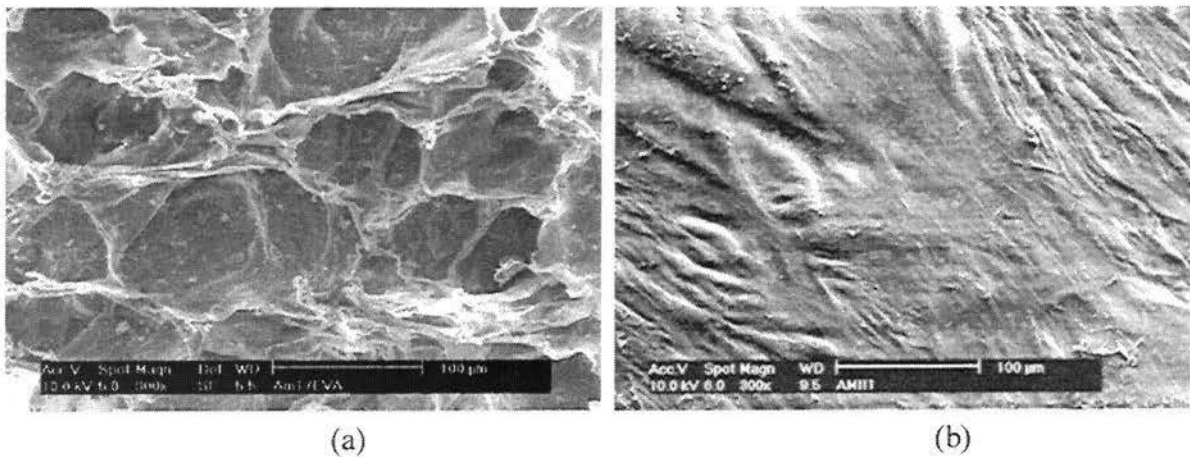


Figura 5.1. Microfotografias (Microscópio Eletrônico de Varredura) da superfície dos materiais selecionados para suporte dos reatores. Aumento de 300 X. (a) EVA, (b) PP.

Pode-se observar que no EVA os poros possuem aproximadamente 70 a 100 μm de diâmetro. Em comparação com a magnitude das bactérias metanogênicas (0,5 a 10 μm), o tamanho permite formação de colônias em seu interior.

A rugosidade mostrada pela superfície do polipropileno aparentemente não seria significativa para o aumento da energia superficial suficientemente para favorecer a adesão. Entretanto, analisando a imagem com magnificação maior, percebem-se sulcos com profundidade adequada. Estas imagens serão apresentadas a seguir, durante análise da formação do biofilme.

5.1.2. Parâmetros Hidrodinâmicos

Os parâmetros calculados, usando as equações anteriormente apresentadas para água a 35 °C, para os materiais selecionados são apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1. Parâmetros hidrodinâmicos teóricos para o sistema de fluidização inversa usando polipropileno (PP) e etileno vinil acetato (EVA). Fluido = água potável a 35 °C *.

Parâmetro	EVA	PP
Re_p	36	36
C_D	0,90	0,90
U_t (m.s ⁻¹)	0,0238	0,0048
Re_t	130,4	26,3
$Ar \times 10^6$	0,90	0,10

* $\rho_l = 993,95 \text{ kg.m}^{-3}$, $\mu = 0,7255.10^{-3} \text{ N.s.m}^{-2}$

Pode-se observar que o EVA apresenta valores bastante elevados de velocidade terminal e de número de Arquimedes. Isto indica que o material, na granulometria encontrada, requer uma velocidade elevada da fase líquida para a fluidização, o que foi confirmado na prática.

A previsão do tamanho de partícula ideal para a adequação deste material ao processo pode ser feita usando a equação do número de Arquimedes. De acordo com esta equação o empuxo exercido por uma partícula é proporcional ao cubo do diâmetro desta. Assim, para um número de Arquimedes em torno de 10^7 , encontrado adequado experimentalmente, as partículas deverão ter um diâmetro em torno de 2 mm.

A cominuição e classificação do EVA até este tamanho pode ser um fator limitante para seu emprego em escala real. Em função das limitações hidrodinâmicas, os estudos foram realizados usando apenas o polipropileno como leito suporte e optou-se pelo emprego de diferentes substratos.

5.1.3. Expansão do Leito de Polipropileno

Após a montagem dos reatores projetados com base nas variáveis hidrodinâmicas foram realizados ensaios de expansão do leito suporte, com o objetivo de verificar os dados teóricos encontrados. O leito de polipropileno foi expandido usando água da rede a 35 °C. A variação do grau de expansão do leito em função da velocidade superficial da fase contínua é apresentada na Figura 5.2.

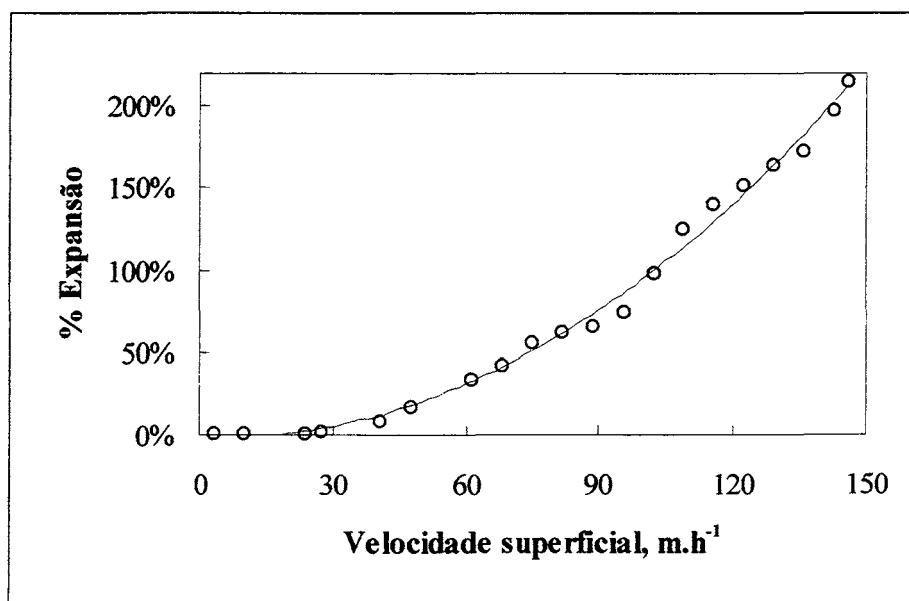


Figura 5.2. Expansão do leito em função da velocidade superficial.

A expansão varia de forma aproximadamente quadrática com o aumento da velocidade do fluido e ocorre de forma homogênea ao longo do comprimento do leito. Em funções de limitações experimentais não foi possível a medição da variação da perda de carga com a vazão. Entretanto, em comparação com dados encontrados na literatura (Tabela 5.2.), é provável que a velocidade superficial empregada tenha sido suficiente para garantir regime de fluidização.

Tabela 5.2. Estudos reportados usando polipropileno como material suporte para reatores de leito fluidizado inverso.

<i>Geometria</i>	U_{mf} ($m.h^{-1}$)	<i>Aplicação</i>	<i>Autores</i>
Cilindros 4 x 3 mm	15-25	Digestão anaeróbia de sacarose	de Tessele <i>et al.</i> , 2000
Esferas 3,6 mm	39	Digestão anaeróbia de efluente de refinaria de petróleo	de Shimodaira e Yushina, de 1983
Cilindros 4 x 3 mm	18-28	Estudos hidrodinâmicos	Hihn, 1992*
Esferas 3,6 mm	24**	Estudos hidrodinâmicos	Ibrahim <i>et al.</i> , 1996
Não mencionada	8,6	Estudos hidrodinâmicos	García-Calderón <i>et al.</i> , 1998b

* Apud García-Calderón *et al.*, 1998b.

** Referente à *velocidade mínima de fluidização uniforme* (velocidade em que todo o leito comporta-se da mesma maneira, superior a U_{mf}).

Razão de Recirculação: Diversos autores empregam a razão de recirculação, dada pela relação entre a vazão recirculada e a vazão de entrada, como parâmetro de controle operacional. Neste experimento, optou-se por empregar a taxa de expansão do leito como parâmetro operacional e a carga aplicada como parâmetro de controle, tornando a operação do reator independente da concentração afluente e da razão de recirculação. Esta opção foi resultante da necessidade de manter a solução sintética refrigerada, evitando a pré acidificação. A vazão de alimentação foi calculada para permitir uma autonomia de 48 h para o experimento (TRH= 24 h). Portanto, em função da elevada razão de recirculação resultante os reatores operaram em regime de mistura completa.

5.2. Medição da Carga Superficial das Partículas do Lodo

A carga superficial do lodo, medida pelo Potencial Interfacial Zeta, em função do pH é apresentada na Figura 5.3.

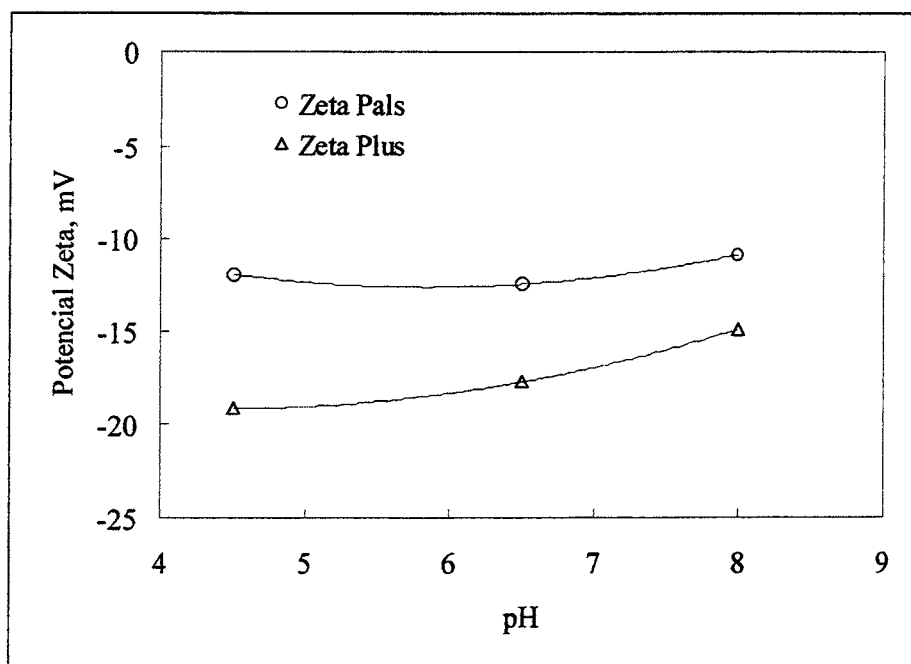


Figura 5.3. Variação do Potencial Zeta do lodo em função do pH

A adesão de bactérias pode ser controlada por interações eletrostáticas, de atração, entre a superfície e os microorganismos carregados. O Potencial Zeta do lodo apresentou-se negativo em uma ampla faixa de pH (4,5 a 8), o que confirma a presença de sítios (grupos) superficiais negativamente carregados (fosfolipídeos e ácidos carboxílicos) (Israelachvili, 1985).

De acordo com Hernandez *et al.*, 1988, as superfícies carregadas positivamente são capazes de fixar uma quantidade significativamente maior de microorganismos anaeróbios do que as carregadas negativamente. Da mesma forma existe, segundo os mesmos autores, uma maior afinidade quando as superfícies são hidrofílicas comparadas com as hidrofóbicas.

Diversos autores sugerem a adição de cálcio durante a partida de reatores anaeróbios de crescimento em leito fixo. Em termos de fenômenos de adesão, a presença de cátions tais como Ca^{+2} e Fe^{+2} podem auxiliar na fase de adsorção nas superfícies, quando estas são carregadas negativamente pelo fato de alterar a carga interfacial do suporte, diminuindo o potencial zeta e em certas condições de pH inclusive pode mudar o sinal da carga (Fuerstenau, 1982).

Ehlinger e colaboradores (1988) estudaram a composição do biofilme em termos de concentração de proteínas e polissacarídeos para dois sistemas com cargas orgânicas muito diferentes, usando cálcio e magnésio. Observaram maior atividade do biofilme na etapa inicial (primeiros 25 dias) no reator contendo cálcio. Por outro lado, a precipitação de sais de ácidos graxos com cálcio levam à formação de um lodo bastante insolúvel, prejudicando o desempenho do reator (Motta Marques et al., 1990).

Por outro lado, a superfície das colônias de bactérias apresentam zonas diferenciadas, sendo algumas hidrofílicas, em função da presença de polissacarídeos aderidos e outras hidrofóbicas, principalmente devido às proteínas da membrana celular. O polipropileno é um material bastante hidrofóbico e sua carga superficial é negativa (Rubio e Hoberg 1993). A presença de pequenas quantidades de tensoativos e polieletrólitos, comuns em efluentes líquidos tanto domésticos quanto industriais, pode modificar as características interfaciais dos materiais, influenciando no fenômeno de adesão.

As etapas prévias à formação do biofilme em uma superfície hidrofóbica, portanto, incluem o molhamento da superfície, recobrimento com macromoléculas de biopolímeros e, somente então, a adesão das primeiras células. Este pré condicionamento é bastante rápido e diversos autores o desconsideram na análise da evolução do biofilme. A microfotografia abaixo (Figura 5.4) mostra a superfície pré condicionada do polipropileno.



Figura 5.4. microfotografia da superfície pré condicionada do PP. Aumento 3000 vezes.

5.3. Resultados da Operação dos Reatores

Os resultados da operação dos dois reatores serão analisados em conjunto a seguir. A Tabela 5.3 sintetiza as etapas experimentais.

Tabela 5.3. Etapas desenvolvidas na operação dos reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso (ano 2000).

<i>Módulo</i>	<i>Data</i>	<i>Reator A</i>	<i>Reator B</i>
I	Abril e maio	Montagem dos reatores. Ajuste de parâmetros hidrodinâmicos.	Montagem dos reatores. Ajuste de parâmetros hidrodinâmicos.
II	15/06	Partida do reator com sacarose como substrato. $U_s = 102 \text{ m.h}^{-1}$.	Partida do reator com sacarose como substrato. $U_s = 102 \text{ m.h}^{-1}$.
III	31/06	Mantido	Redução da velocidade $U_s = 40 \text{ m.h}^{-1}$
IV	15/07	Redução da velocidade $U_s = 40 \text{ m.h}^{-1}$	Mantido
V	15/08	Início da adição de etanol	Mantido
VI	30/08	Aumento progressivo da carga	Aumento progressivo da carga
EE*	31/10	Fim da coleta de dados	Fim da coleta de dados

*EE = estado estacionário (120 dias).

A partida do reator A foi estável, sem problemas operacionais significativos. Como será apresentado a seguir, o pH estabilizou-se no segundo dia de operação e a remoção de matéria orgânica foi constatada na primeira semana. Apesar de terem acontecido paradas freqüentes no processo, com duração variada, devido à falta de energia elétrica, o reator apresentou estabilidade operacional, não sendo necessário o controle do pH pela adição de alcalinidade.

A partida do reator B apresentou diversos problemas operacionais, tais como vazamentos, falhas no sistema de aquecimento e de alimentação. Foi necessária a dosagem de alcalinidade (bicarbonato de sódio) para a manutenção do pH na faixa neutra. Após a adição de bicarbonato a recuperação das condições operacionais foi relativamente rápida. A remoção de matéria orgânica foi constatada ao final da primeira semana. A seguir, os resultados obtidos na operação dos reatores são apresentados e discutidos.

5.3.1. Parâmetros de Monitoramento do Processo: pH, Ácidos graxos Voláteis, Alcalinidade e Potencial Redox.

O pH do reator A estabilizou-se rapidamente, após uma queda inicial para valores em torno de 5,5. Este decréscimo observado nas primeiras horas de operação foi devido à produção de *ácidos graxos* voláteis sem seu consumo subsequente pelas bactérias metanogênicas. Ficou demonstrado que a alcalinidade presente no sistema garantiu a estabilidade do pH na faixa neutra até o final da operação. As Figuras 5.5 e 5.6 mostram os valores de pH medidos ao longo da operação dos reatores. Nos mesmos gráficos, encontra-se a variância calculada para estes valores e pode-se observar o acentuado decréscimo após 40 dias de operação, aproximadamente.

O pH no reator B apresentou menor variância do que no reator A, apesar da velocidade de neutralização mais lenta. A variância do reator B durante a partida foi significativamente menor mas durante a operação (a partir de 60 dias) não houveram diferenças significativas entre os reatores.

O pH em reatores anaeróbios é regulado pelo equilíbrio do sistema carbonato, resultante da difusão de CO_2 e da produção de ácido carbônico a partir da degradação da matéria orgânica. No sistema de fluidização inversa o maior tempo de permanência do CO_2 no sistema em função do fluxo do líquido em contracorrente com o do gás pode ter contribuído para a manutenção da alcalinidade no sistema.

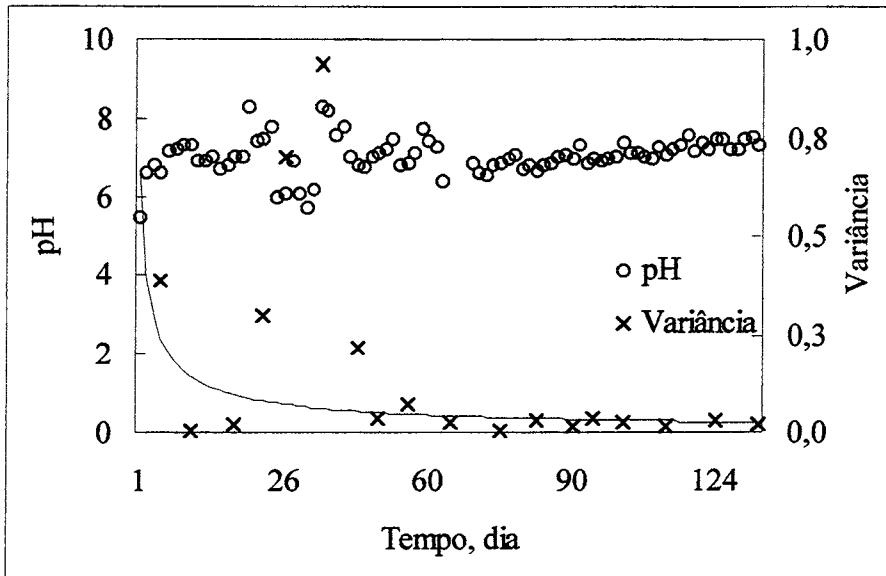


Figura 5.5. Valores de pH e sua variância ao longo da operação do Reator A.

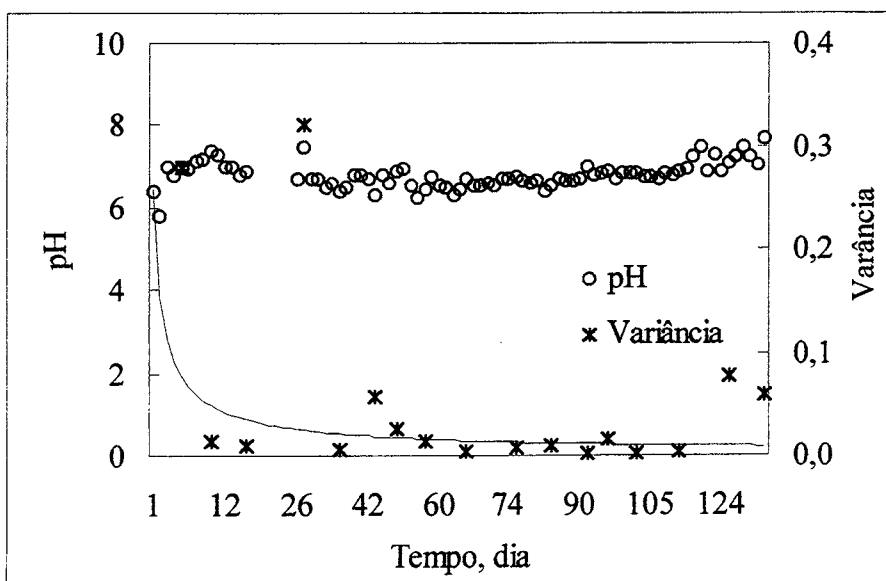


Figura 5.6. Valores de pH e sua variância ao longo da operação do Reator B.

Conforme pode ser observado na Figura 5.7 a alcalinidade aumentou proporcionalmente à concentração de matéria orgânica devido à adição de bicarbonato de sódio. O surgimento de alcalinidade em reatores anaeróbios está associado à presença de substratos contendo compostos geradores de alcalinidade, principalmente acetato de sódio. Como neste caso, como os substratos foram sacarose e etanol, não haveriam fontes de produção de alcalinidade, como efetivamente não houve.

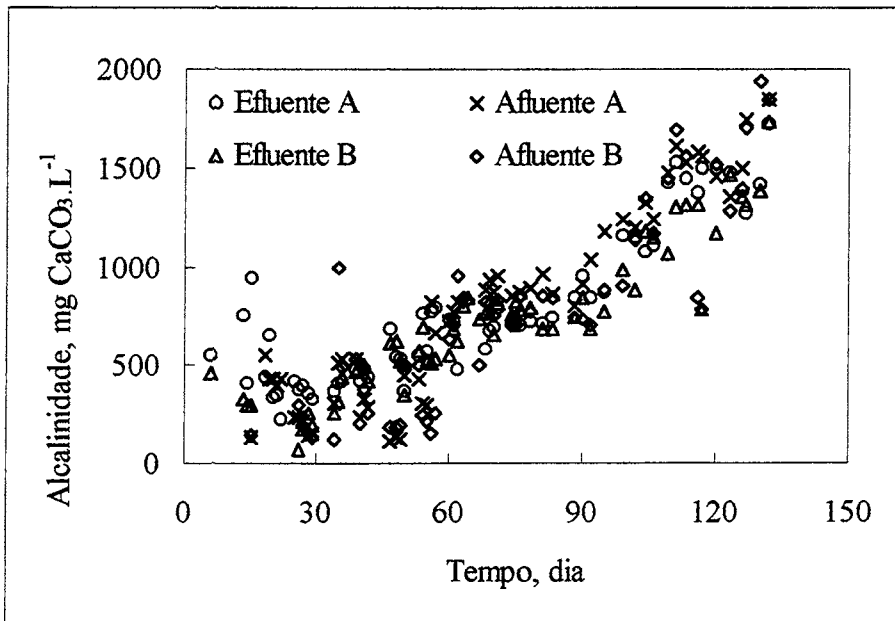


Figura 5.7. Concentração de alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$) afluente e efluente aos reatores A e B.

As concentrações de ácidos graxos ao longo da operação dos reatores A e B são apresentadas nas Figuras 5.8 e 5.9, respectivamente. Os valores assinalados com elipses pontilhadas nos gráficos são duvidosos, provavelmente decorrentes de erros analíticos (problemas operacionais no cromatógrafo).

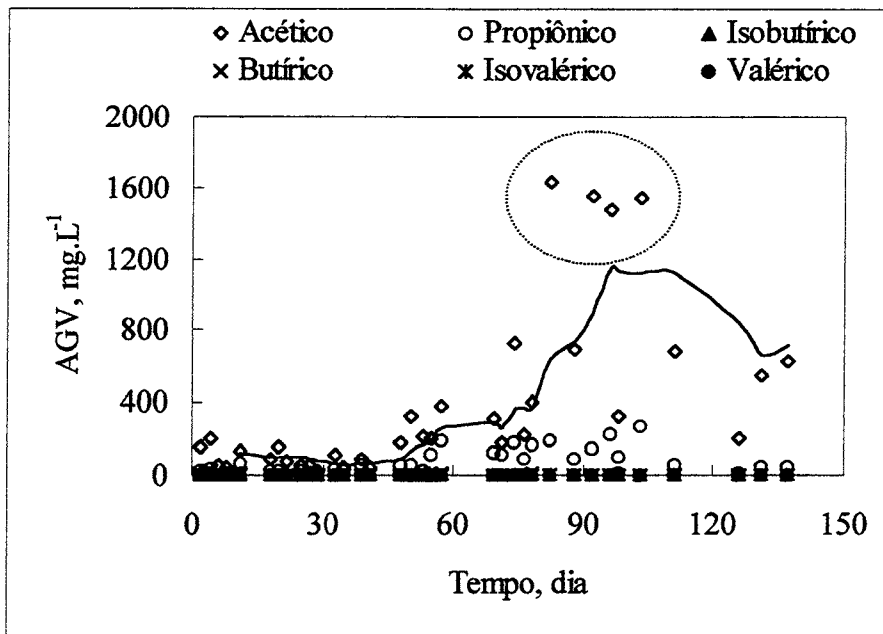


Figura 5.8. Composição dos ácidos graxos voláteis (AGV) no reator A.

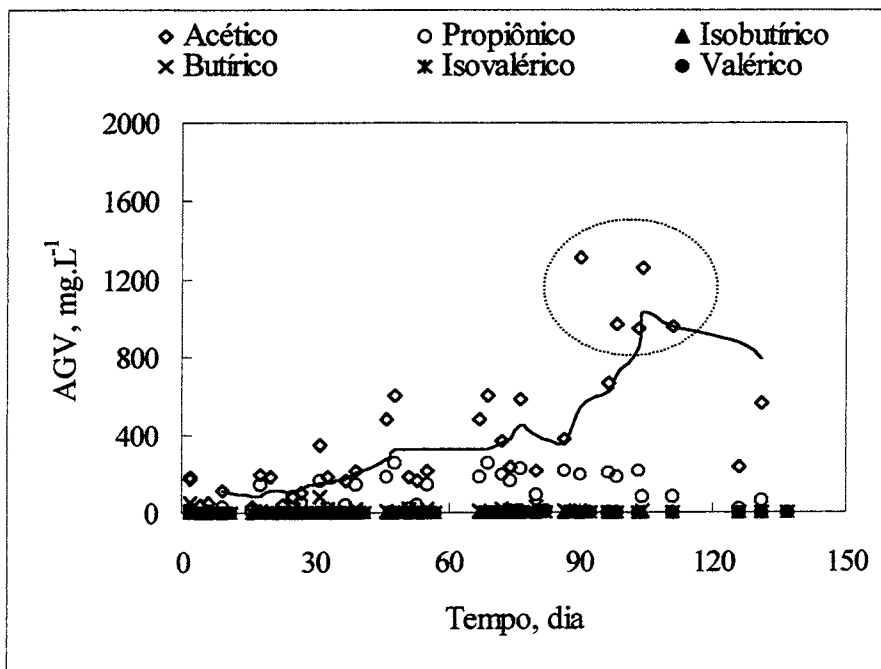


Figura 5.9. Composição dos ácidos graxos voláteis (AGV) no reator B.

Comparando a concentração de ácido acético com a DQO da mesma amostra, verifica-se que os resultados assinalados são de fato inconsistentes e, portanto, não serão considerados na análise dos resultados. A predominância do acetato sobre os demais ácidos

é mostrada na Figura 5.10 O acetato é o principal precursor (75%) do gás metano na digestão anaeróbia (Zehnder, 1988). Entretanto, apenas oito espécies (espécies de *Methanosarcina sp.* e *Methanotrix sp.*) são conhecidas por usar o acetato como substrato. Conforme será mostrado a seguir, a caracterização morfológica pela técnica de microscopia eletrônica de varredura confirma a predominância de bactérias morfológicamente similares a estas em ambos os reatores.

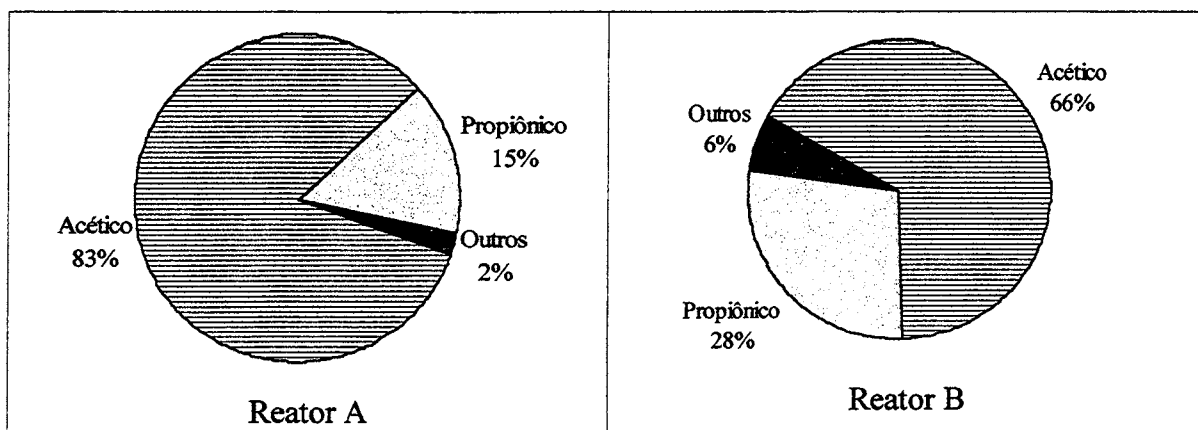


Figura 5.10. Predominância dos ácidos graxos voláteis nos reatores A e B. A parcela “outros” representa a soma dos ácidos isobutírico, butírico, isovalérico e valérico.

A variação do potencial redox foi acompanhada com o objetivo de confirmar a existência de condições redutoras no reator. Os resultados mostrados na Figura 5.12 indicam a queda gradual do potencial redox até valores abaixo de -300 mV. Esta figura comprova a estabilização dos reatores (estado estacionário), coincidente com a estabilização do pH e da remoção de matéria orgânica, em torno de 65 dias de operação, para ambos os reatores. Este período coincide com a identificação da produção significativa de biogás, sendo caracterizado o final do período de partida (*start-up*).

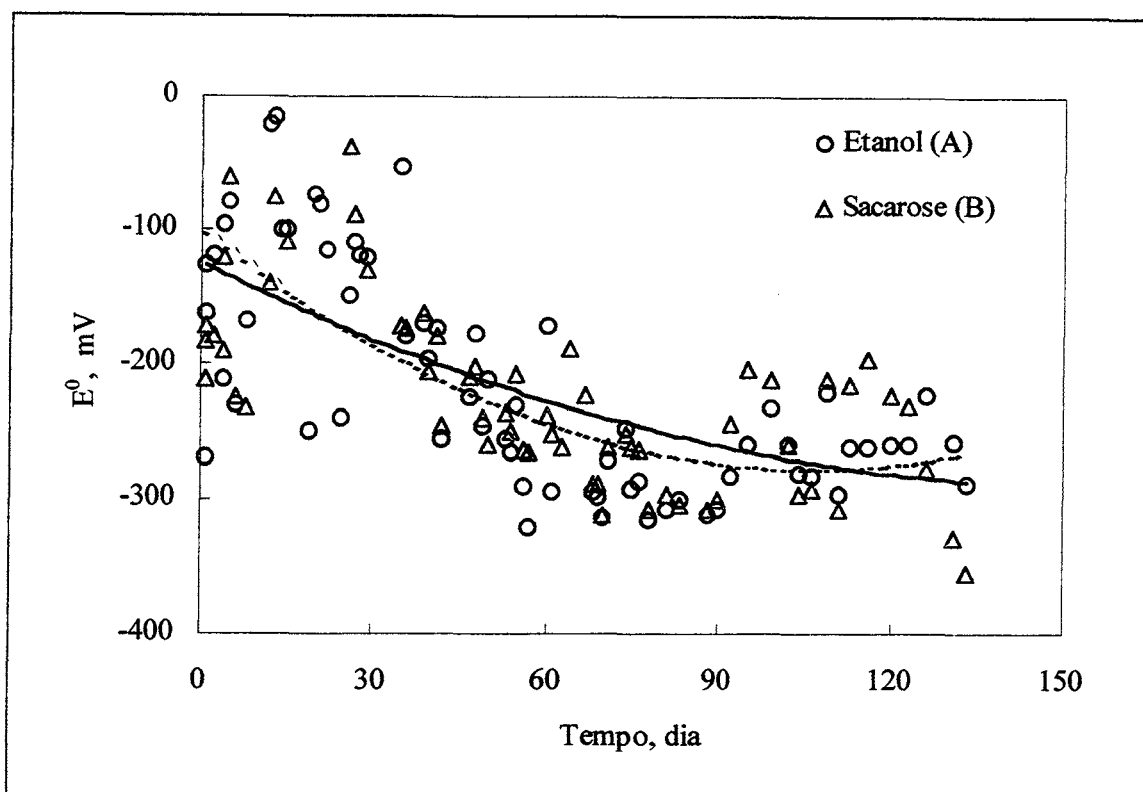


Figura 5.11. Variação do potencial redox nos reatores A e B.

Observa-se que no reator alimentado com etanol a tendência à estabilização é mais evidente do que no reator alimentado com sacarose. Entretanto, em função das limitações do método de medição deste potencial, não é possível afirmar que existe uma diferença significativa entre os valores obtidos para os dois reatores. A Tabela 5.4 resume os resultados dos parâmetros de monitoramento analisados para cada etapa experimental.

Tabela 5.4. Resumo dos parâmetros de monitoramento ao longo da operação dos reatores.

Módulo	pH		E°, mV		Alcalinidade*		AGV, mg.L ⁻¹	
	A	B	A	B	A	B	A	B
II	6,8	6,9	-131	-159	665	344	164	148
III	6,9	6,9	-140	-27	388	175	93	166
IV	7,3	6,6	-219	-222	558	504	251	423
V	6,8	6,6	-287	-260	677	754	492	644
VI	7,1	6,9	-273	-269	1195	1076	521	621

* mg.L⁻¹ CaCO₃. A = Reator A; B = Reator B

5.3.2. Remoção de Matéria Orgânica

A remoção de matéria orgânica foi estimada pela medição dos valores de DQO. Observa-se a estabilidade nos valores de saída frente ao progressivo aumento da carga de entrada, apesar de que os valores de DQO afluentes mostraram-se levemente superiores aos valores obtidos no reator alimentado com etanol. A resposta para a recuperação do pH após cada incremento na carga foi mais lenta do que no reator alimentado com sacarose, apesar de ter ocorrido em períodos relativamente curtos (<24 h). A Figura 5.12 mostra os valores de DQO afluente e efluente aos reatores A e B:

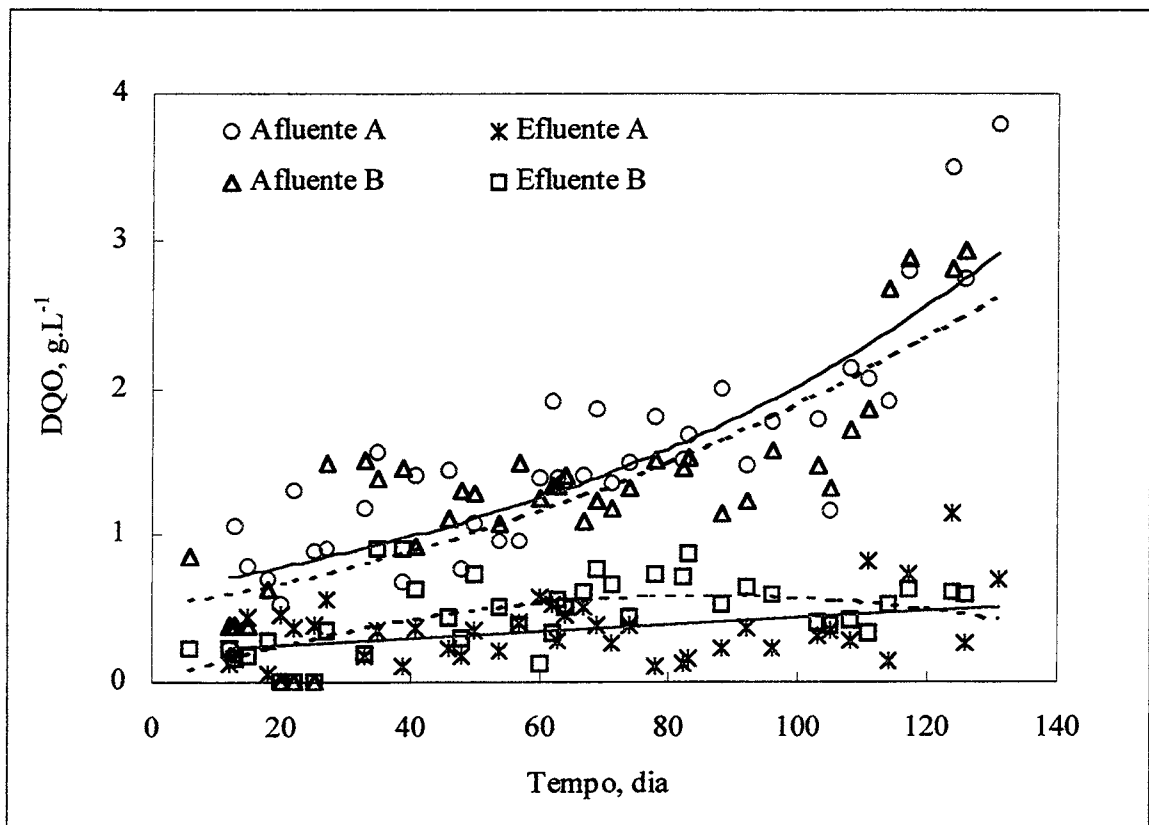


Figura 5.12. Valores de demanda química de oxigênio na entrada e saída dos reatores.

A Figura 5.13 mostra o aumento da carga orgânica volumétrica ao longo da operação dos reatores.

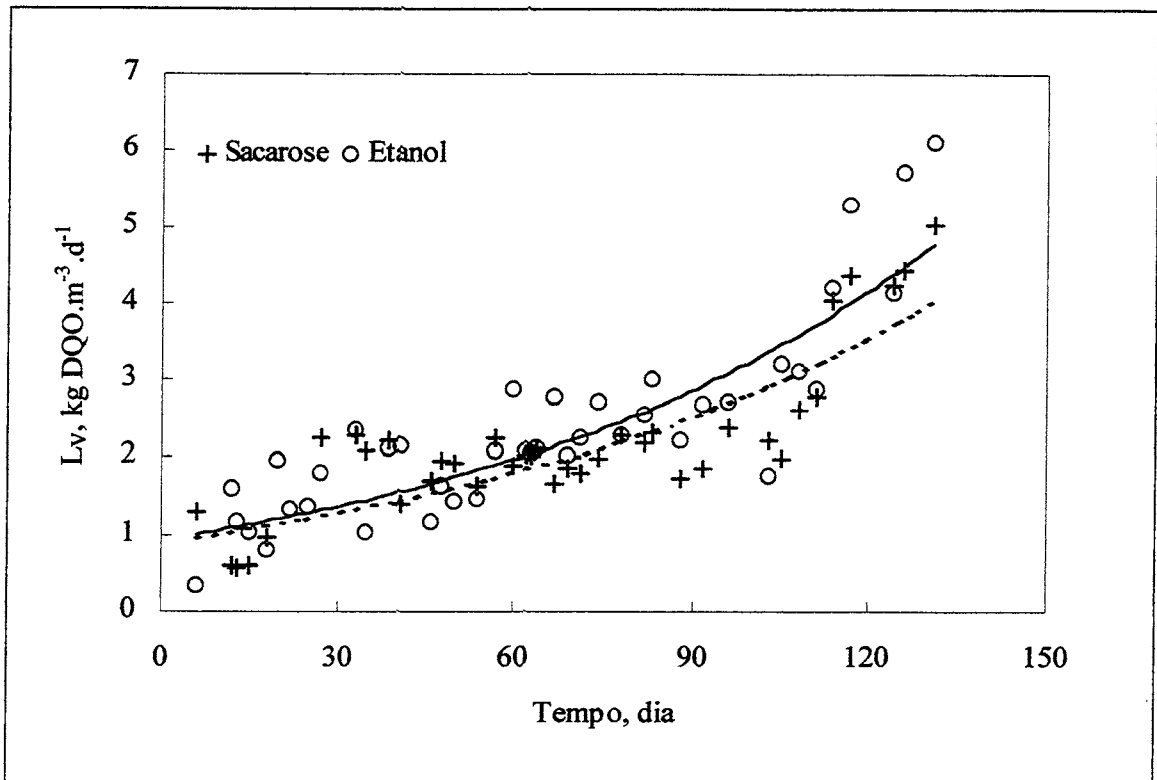


Figura 5.13. Carga orgânica volumétrica aplicada aos reatores A e B (referente ao volume total = 35 L).

Não foi possível atingir os valores de carga orgânica obtidos com o reator alimentado com etanol durante os meses de operação. Os problemas ocorridos na partida do reator B podem ter afetado o seu desempenho devido a períodos sem aquecimento e/ou sem fornecimento de alimento ao reator.

Conforme previsto pelas equações da cinética bacteriana, aumentando-se a carga orgânica a remoção aumentou significativamente, ainda que apresentando certa variabilidade. Com o aumento da disponibilidade de substrato, desde que seja evitada a inibição pelo excesso de acetato, as bactérias metanogênicas encontram melhores condições de desenvolvimento, aumentando em número. Foi tomado o cuidado de aumentar a carga gradualmente, em acréscimos de 30%, monitorando o pH com maior frequência neste período. A Figura 5.14 mostra o aumento da remoção de matéria orgânica com o aumento da carga aplicada.

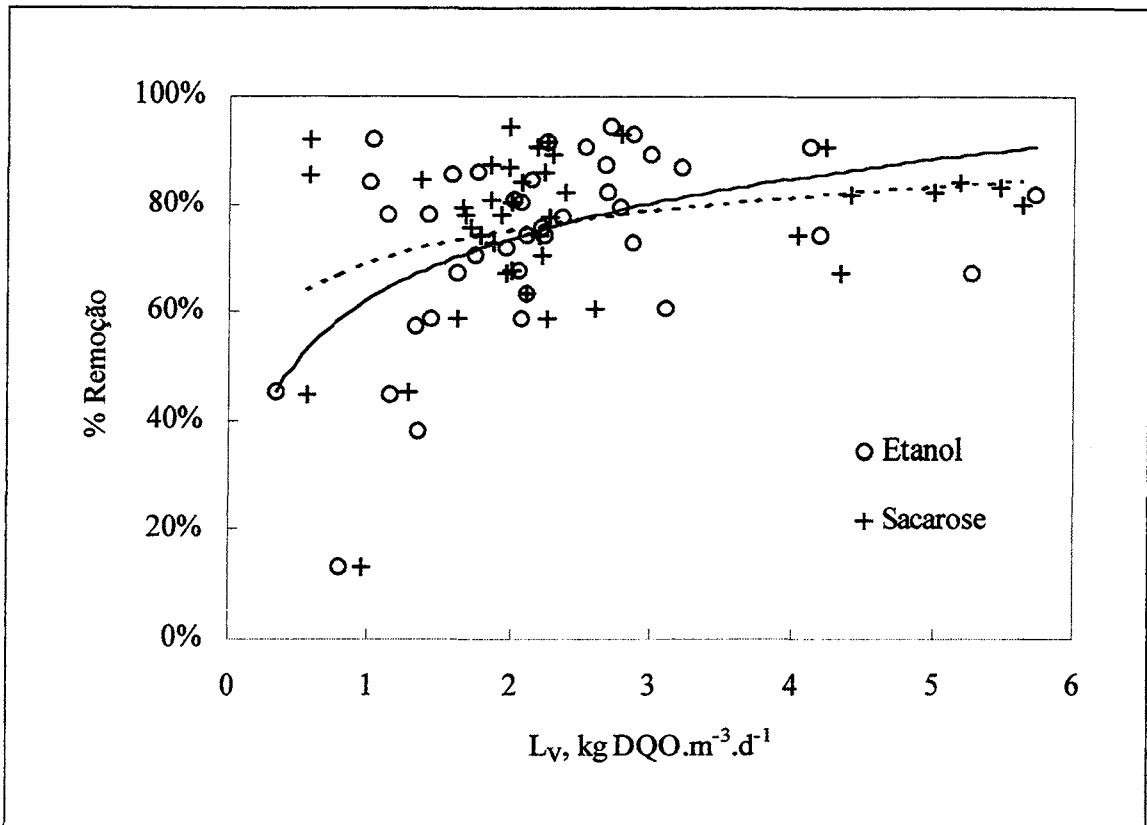


Figura 5.14. Variação da remoção de matéria orgânica com o aumento da carga orgânica aplicada.

A tendência das curvas acima apresentadas, principalmente a estabilidade dos valores de DQO de saída, indica que ainda não foi atingida a carga orgânica máxima do sistema. Adicionalmente deve-se levar em conta que dos 2,0 m de coluna apenas 0,48 m foram preenchidos com o material suporte. A carga orgânica foi calculada considerando a coluna inteira (35L), contabilizando o efeito da biomassa em suspensão na remoção da matéria orgânica.

Para o reator alimentado somente com sacarose (B) a remoção de matéria orgânica apresentou uma correlação crescente com a carga aplicada mas não apresentou a mesma estabilidade verificada no reator alimentado com etanol (A). No reator B, a eficiência alcançada foi menor e, para condições experimentais bastante similares, o percentual de remoção variou bastante, sendo atingidos valores em torno de 80% em valores mais elevados de carga orgânica.

A Tabela 5.5 resume os resultados de remoção de matéria orgânica, carga orgânica aplicada e concentração de metano no biogás, para cada módulo experimental.

Tabela 5.5. Resumo dos parâmetros de desempenho dos reatores.

Módulo	Remoção de DQO, %		Carga orgânica aplicada *		% CH ₄ no biogás	
	A	B	A	B	A	B
II	67%	57%	1,0	0,8	ND	ND
III	53%	66%	1,4	1,6	23%	9,2%
IV	73%	59%	1,8	1,9	56%	53%
V	77%	73%	2,3	1,9	68%	65%
VI	83%	81%	3,6	3,1	72%	69%
EE	90%	78%	5,5	4,9	72%	70%

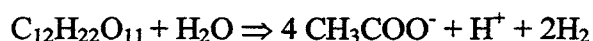
* kg DQO.m⁻³.d⁻¹. A = Reator A; B = Reator B. EE = Estado Estacionário (após 120 dias).

A maior estabilidade operacional empregando-se etanol em reatores anaeróbios de leito fluidizado havia sido observada anteriormente por Marín *et al.* (1999). Estes pesquisadores desenvolveram um reator de leito fluidizado convencional e não obtiveram sucesso na partida usando sacarose e, ao adicionarem etanol a partida foi bem sucedida, para uma carga orgânica aplicada de 4 kg DQO.m⁻³.d⁻¹.

A diferença encontrada na facilidade da partida usando etanol com relação à sacarose pode ser analisada sob o ponto de vista termodinâmico. Na digestão de compostos orgânicos, a energia liberada pela reação de oxidação/redução (energia livre) fica disponível para as bactérias. Parte desta energia é usada em processos anabólicos e parte é liberada sob a forma de calor (van Haandel e Lettinga, 1994).

A energia livre de reação pode ser estimada pela diferença entre a energia livre de formação dos produtos e dos reagentes. Assim, usando os dados publicados por Thauer *et al.*, (1977), foi calculada a energia transferida por mol de substrato e por grama de DQO teórica, para a reação global de fermentação:

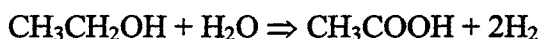
Reação global da fermentação da sacarose



$$\Delta G^0 = -(-370,90 - 56,687) + 4 \times (-88,29) + 0 = +74,43 \text{ kcal/mol}$$

$$\text{Ou } \Delta G^0 = 0,20 \text{ kcal/g DQO}$$

Reação global da fermentação do etanol

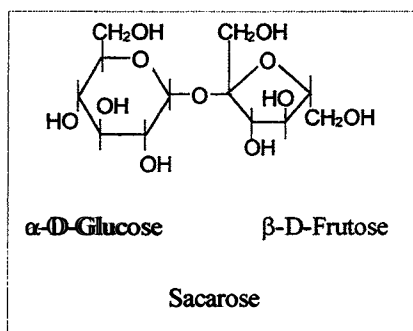


$$\Delta G^0 = -(-43,44 - 56,687) + (-88,29) + 0 = +11,8 \text{ kcal/mol}$$

$$\text{Ou } \Delta G^0 = 0,12 \text{ kcal/g DQO}$$

Do ponto de vista termodinâmico, para a concentração de substrato expressa em termos de DQO, a sacarose requer cerca de 1,6 vezes a mais energia para a fermentação do que o etanol. Isto implica em menos energia disponível para os microorganismos e em uma menor tendência de formação de acetato a partir da sacarose do que a partir do etanol.

A sacarose (açúcar comum) é composta por uma molécula de α -D-Glucose e outra de β -D-Frutose. É o dissacarídeo mais facilmente hidrolisável, resultando em uma mistura



de glucose e frutose, chamada de açúcar invertido (Bailey e Ollis, 1986). Por ser uma molécula mais complexa, ocorre a formação de ácidos intermediários até a produção de acetato, dependendo da rota metabólica. Os principais produtos intermediários ácidos formados são o butirato, o propionato, o fumarato e o succinato, além do ácido carbônico.

Estes fatores combinados explicam as dificuldades enfrentadas na partida de reatores alimentados somente com sacarose.

5.3.3. Composição do Biogás

A produção de biogás foi detectada após 40 dias de operação aproximadamente. A composição do gás produzido foi medida por cromatografia gasosa em diversos dias ao longo da operação dos reatores. A composição relativa, expressa em massa de nitrogênio, gás carbônico e metano, é mostrada na Figura 5.15. A medição da vazão do biogás não foi possível em função de limitações experimentais. Atualmente um medidor cumulativo do volume de gás produzido está sendo desenvolvido no IPH e será acoplado ao sistema para etapas posteriores deste trabalho.

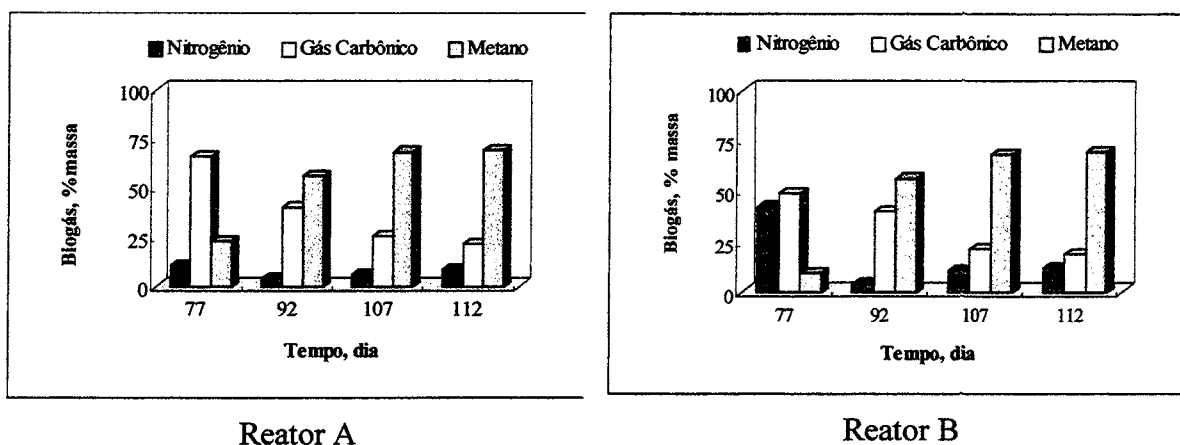


Figura 5.15. Variação da composição do biogás durante a operação dos reatores.

5.3.4. Atividade Metanogênica Específica

Os resultados de atividade metanogênica específica obtidos não foram considerados em função de dois problemas operacionais: (i) a agitação do sistema não foi adequada, não permitindo o contato entre o substrato e grande parte do material suporte (biofilme) e (ii) a concentração de biogás não foi medida por falhas no cromatógrafo. Os resultados obtidos encontram-se no Anexo I.

5.4. Dinâmica de Formação do Biofilme

A formação das colônias teve início nas cavidades da superfície do material, favorecido pelo menor atrito interfacial. O biofilme desenvolveu-se a partir destes vales até recobrir a superfície, no período de 120 dias. As diferentes etapas, visualizadas nas microfotografias, podem ser representadas do ponto de vista cinético do crescimento do biofilme através do seguinte diagrama (Figura 5.16).

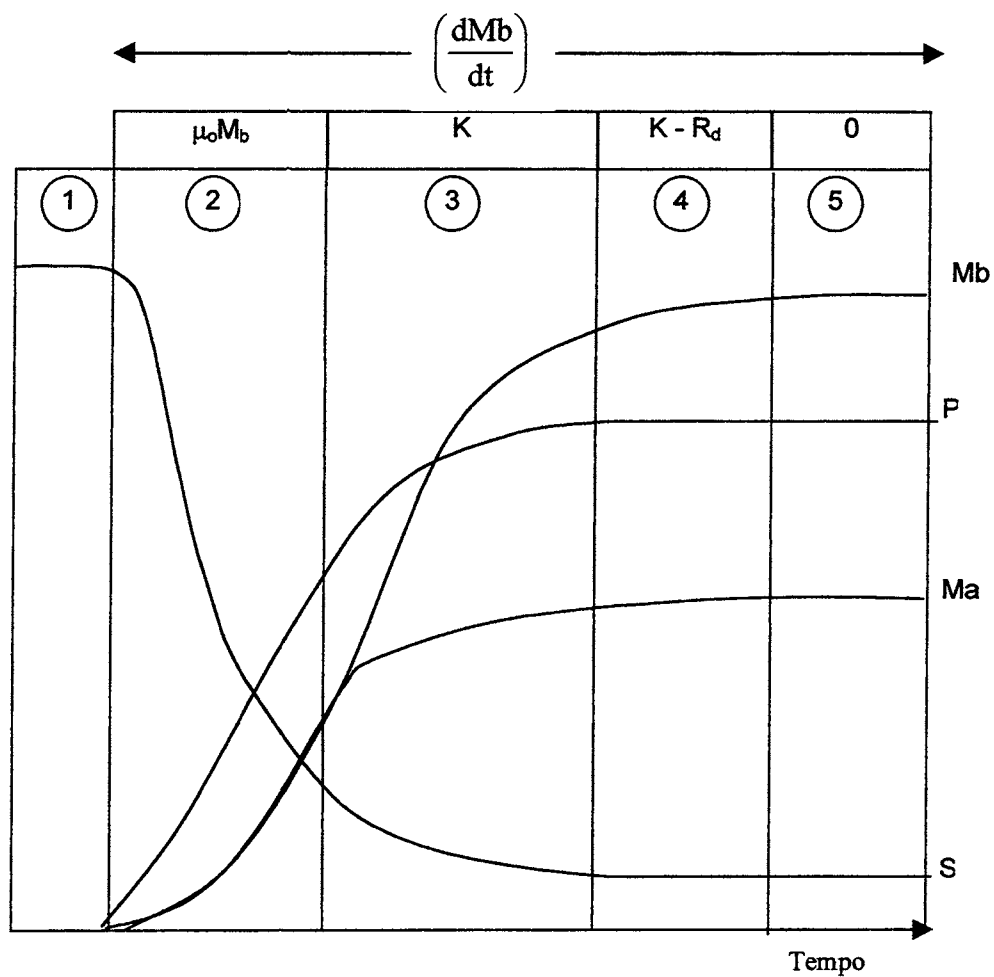


Figura 5.16. Representação das diferentes fases de crescimento do biofilme anaeróbio nos reatores de leito fluidizado inverso. (1) Fase latente ou de aclimação; (2) Fase de crescimento acelerado do biofilme; (3) Fase de crescimento linear do biofilme; (4) Fase de transição; (5) Fase de estabilização. (Modificado de Belkhadir *et al.*, 1986)

Os parâmetros empregados nesta análise foram:

- Concentração de substrato, S , na saída do reator, medida pela DQO efluente;
- concentração de metano no biogás, P ;
- microorganismos fixos no biofilme, M_b , estimado por MEV;
- microorganismos fixos ativos, M_a , estimado por MEV;

Foram identificadas cinco etapas a partir da combinação destes parâmetros:

(1) *Fase latente ou de aclimatação*: As moléculas orgânicas se adsorvem à superfície, favorecendo a adesão de bactérias isoladas (Neu, 1996). A duração desta fase é curta, (5 a 10 h), e os mecanismos são predominantemente físico-químicos, onde as forças de interação entre a superfície e as células são fracas (Robb, 1984). A microfotografia da Figura 5.17 mostra a superfície do PP após 8 horas de operação dos reatores quando é possível observar a presença de algumas células

aderidas à superfície recoberta por polímeros.

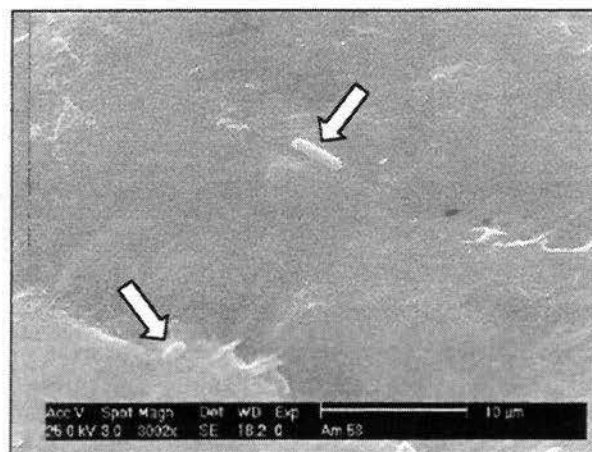
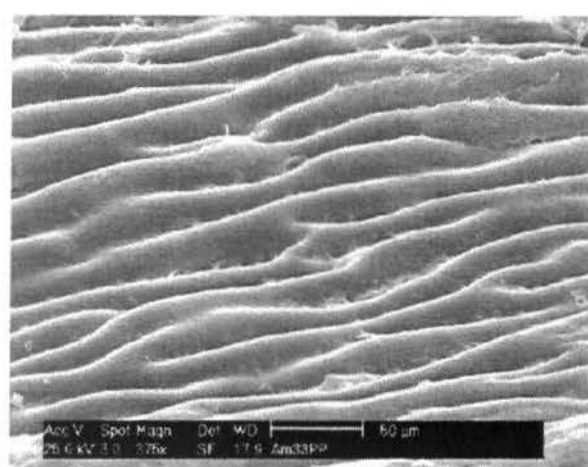


Figura 5.17. Superfície do PP (MEV) após 8 horas de operação, Reator A. Aumento 3000 X.

A seqüência de microfotografias (MEV) a seguir (Figura 5.18) mostra as demais etapas relacionadas no diagrama da Figura 5.16.

(2) *Fase de crescimento acelerado do biofilme*: Corresponde a uma evolução no consumo de substrato, simultaneamente com o aumento da formação de produtos, nesta etapa representados pelos *ácidos graxos* voláteis. A acumulação de biomassa é dominada pelo crescimento das bactérias (já que existe substrato abundante no meio), de acordo com a equação (Belkhadir *et al.*, 1986):

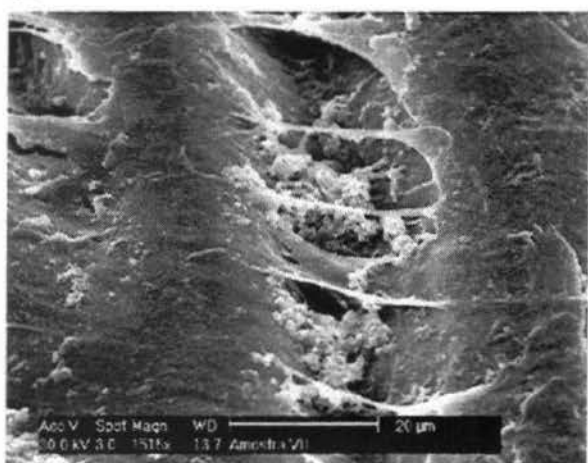
$$\frac{dM_b}{dt} = \mu_o M_b, \text{ onde } \mu_o \text{ é a constante cinética de crescimento dos microorganismos.}$$



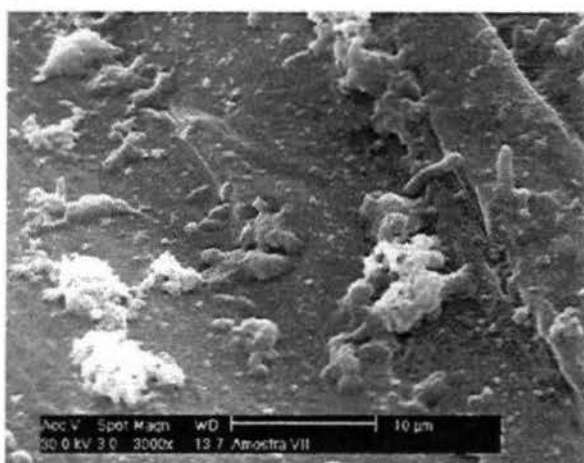
(a)



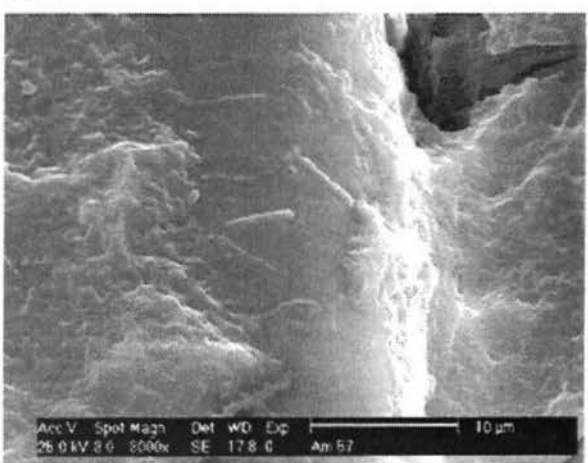
(b)



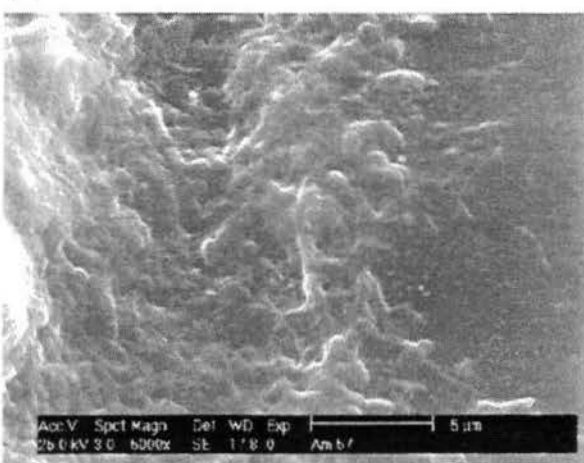
(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 5.18. Etapas 1, 2, 3, 4 e 5 de crescimento do biofilme a partir das cavidades do polipropileno, durante o período de 65 dias. (a) e (b) = 6^o dia, (c) = 14^o dia, (d) = 36^o dia, (e) e (f) = 65^o dia. Microscopia eletrônica de varredura.

Neste período teve início a remoção de matéria orgânica e a estabilização do pH do meio. As microfotografias (a) e (b) são da mesma amostra com aumentos de 375 e 1600 vezes respectivamente, após 6 dias de operação do reator alimentado com sacarose. Observa-se que as primeiras células encontram-se aderidas no fundo dos vales, constituindo-se no início das colônias. É evidente também a presença de biopolímeros aderidos à superfície, já contendo uma quantidade significativa de bactérias imersas em sua matriz.

(3) *Fase de crescimento linear do biofilme*: corresponde à acumulação de microorganismos no biofilme a uma taxa constante. Esta fase caracterizou-se por uma concentração de substrato constante na saída, apesar do incremento progressivo da DQO na entrada. A cinética de crescimento nesta etapa aproxima-se ao modelo de ordem zero e a concentração de produtos (metano) na saída tende à estabilização. A concentração de acetato nos reatores manteve-se acima de 400 mg.L⁻¹ durante a maior parte da operação. Para a *Methanosarcina sp.* a concentração limitante (K_s) é de 300 mg HAc.L⁻¹, enquanto que para a *Methanotrix sp.* $K_s = 45$ mg HAc.L⁻¹. Sendo a concentração de acetato superior ao mínimo requerido, a taxa de acumulação de biomassa é constante e dependente apenas da cinética de crescimento da biomassa ativa:

$$\frac{dMb}{dt} = K = \mu_o(M_a)_{\text{máx}}$$

A microfotografia (c) mostra a adsorção dos polímeros biológicos na superfície, formando uma espécie de “ponte” entre dois pontos da amostra. A foto (d) mostra a reprodução das bactérias aderidas e o início do recobrimento das partes mais elevadas da superfície.

(4) *Fase de transição*: é uma fase intermediária entre a fase de crescimento e a fase de estabilização nos valores máximos. Está relacionada principalmente às limitações impostas pela hidrodinâmica do sistema (cisalhamento), onde reside o controle da

espessura do biofilme. Nesta etapa o sistema tende a um regime permanente e a cinética depende também da taxa de desadesão de bactérias (R_d):

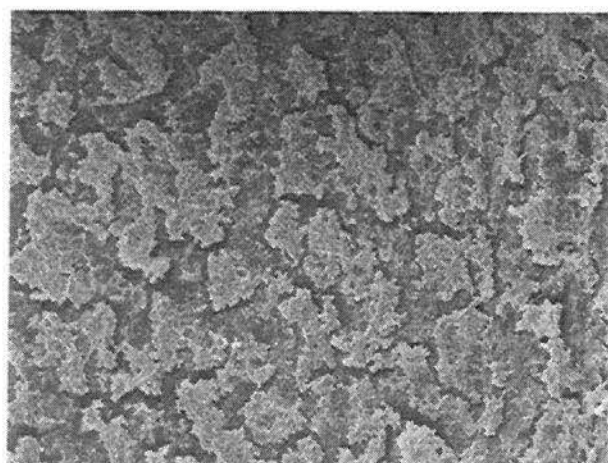
$$\frac{dM_b}{dt} = K = \mu_o(M_a)_{m\acute{a}x} - R_d$$

Esta taxa pode ser estimada através da medida dos sólidos em suspensão na entrada e na saída do reator. Nesta etapa é estabelecido o equilíbrio entre os fenômenos físicos de remoção de células e os fenômenos biológicos, de produção de novas células. A microfotografia (e) mostra a superfície já recoberta com uma grande quantidade de organismos com alta atividade, evidenciada por diversas células em reprodução observadas.

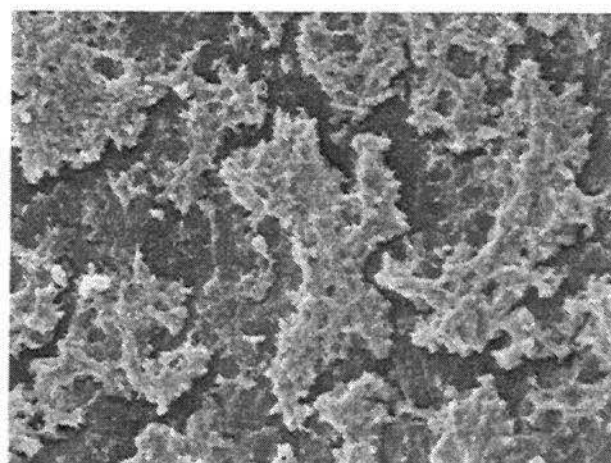
(5) *Fase de estabilização*: nesta etapa é definido o equilíbrio entre a quantidade de células que se desprendem do biofilme e as novas células formadas. Todos os parâmetros permanecem estáveis e a taxa de acumulação é nula $\left(\frac{dM_b}{dt} = 0\right)$. A microfotografia (f) mostra a superfície completamente recoberta por biopolímeros e microorganismos, o que caracteriza o biofilme de estado estacionário.

Após a formação do biofilme estacionário, as regiões menos rugosas encontravam-se igualmente recobertas por biofilme. A Figura 5.19 mostra a seqüência de aumentos de uma mesma área em uma amostra de PP (123 dias), do reator alimentado com sacarose. As falhas observadas entre as porções de biofilme são devidas ao processo de desidratação da amostra durante o preparo para o MEV. Observa-se a presença de colônias de *Methanosarcina sp. sp* na microfotografia com aumento de 3000 vezes.

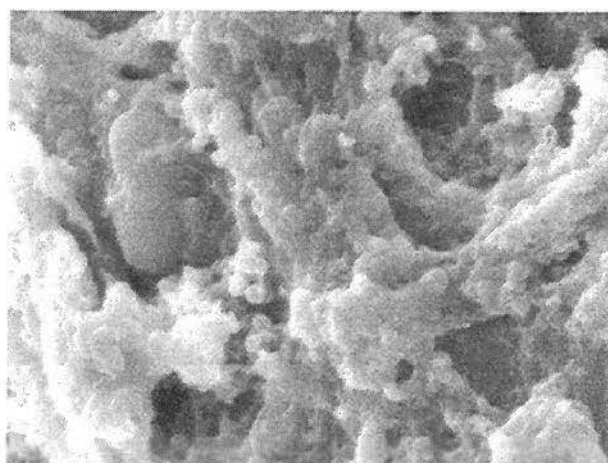
No reator alimentado com etanol não foram observadas modificações significativas nas etapas de formação do biofilme e portanto as microfotografias são apresentadas no Anexo II.



Aumento de 100 vezes



Aumento de 300 vezes.



Aumento de 3000 vezes.

Figura 5.19. Seqüência de aumentos da mesma área do PP para o reator alimentado em sacarose.

A Figura 5.20 mostra as características morfológicas dos biofilmes formados em ambos os reatores. Após ser atingido o estado estacionário, os biofilmes formados nos reatores A e B, alimentados em diferentes substratos, foram comparados em termos das espécies de bactérias predominantes e morfologia. O biofilme alimentado em etanol apresentou menor diversidade morfológica e aparentemente continha maior quantidade de *Methanosarcina sp.*, sob a forma de pequenos cocos. Células similares à *Methanotrix sp.* foram encontradas em ambos os reatores.

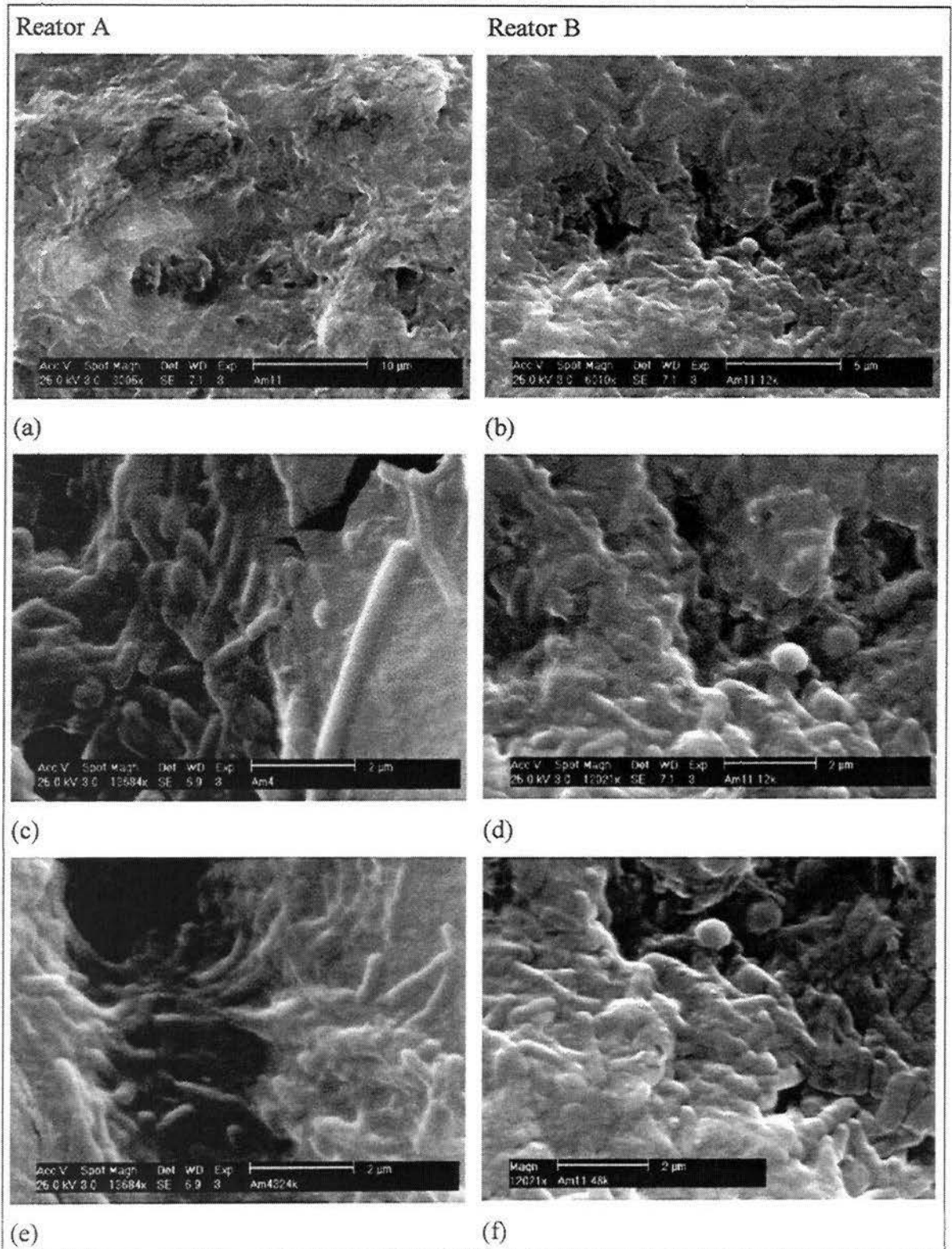


Figura 5.20. Características morfológicas dos biofilmes em estado estacionário (após 120 dias). MEV. Reator A = etanol; Reator B = sacarose.

5.4.1. Caracterização Morfológica dos Organismos Anaeróbios do Biofilme

Ambos os reatores apresentaram resultados bastante similares em termos de desenvolvimento do biofilme. Uma grande variedade morfológica de bactérias foi identificada. Bastões, cocos e filamentos alongados foram as predominantes. Como pode-se observar na Figura 5.21, as células encontravam-se envolvidas em biopolímeros e, em geral, encontravam-se dispersas e não em colônias da mesma população.

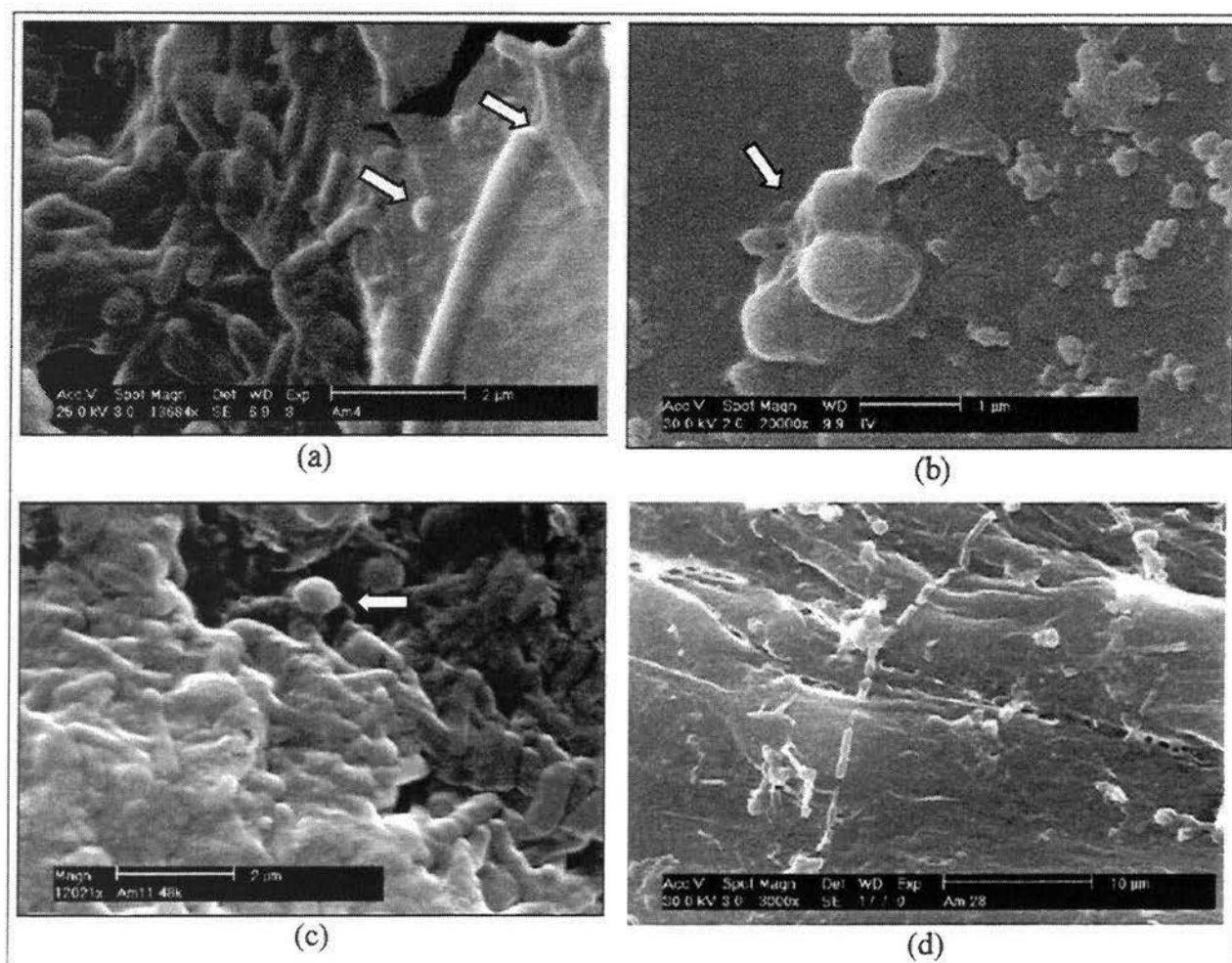


Figura 5.21. Microfotografias de alta magnificação do biofilme em estado estacionário. Exceção microfotografia (d), com 38 dias.

Observam-se cocos morfológicamente similares à *Methanosarcina sp.* ($< 1 \mu\text{m}$). Nas microfotografias (a), (c) e (d) destacam-se os filamentos formados por bastões curtos e de bordas definidas, morfológicamente idênticos à *Methanotrix sp.* Uma colônia de

bactérias similares *Methanosarcina sp.*, envolvida em biopolímeros, é mostrada na microfotografia (b) (Eighmy *et al.*, 1983; Gorris *et al.*, 1988, Gorris *et al.*, 1989).

5.5. Avaliação da Superfície Colonizada por Microscopia de Força Atômica

A rugosidade superficial do polipropileno após colonização (90 dias), medida por microscopia de força atômica, é mostrada na Figura 5.22.

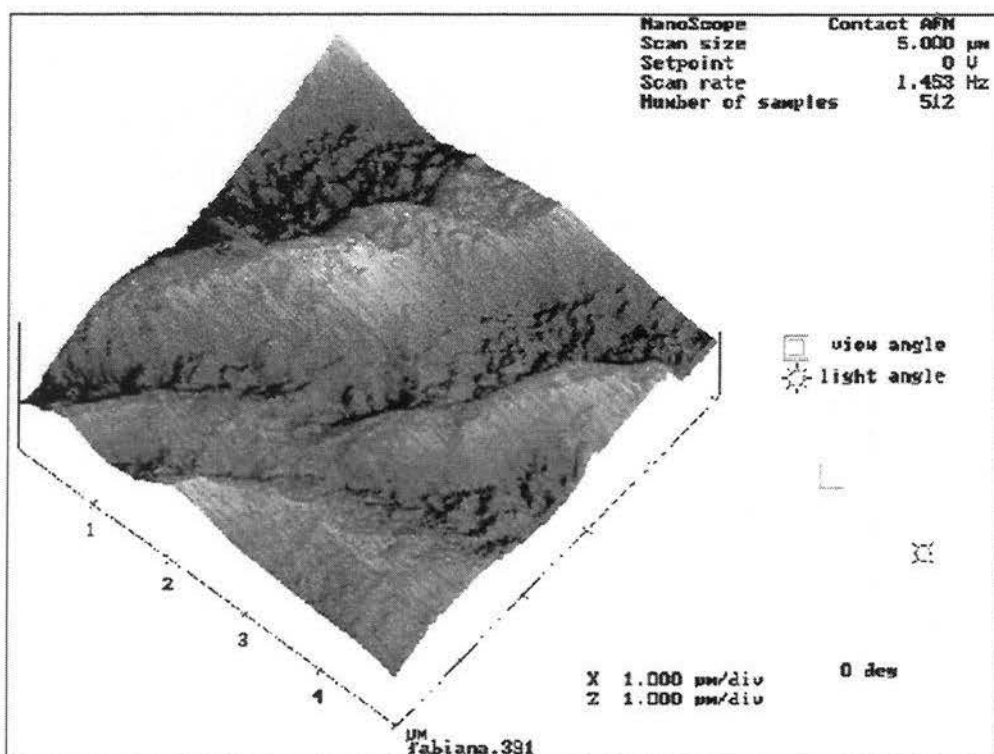


Figura 5.22. Microfotografia em microscópio de força atômica de uma região da superfície de uma amostra de polipropileno após colonização.

A área analisada foi de $100 \mu\text{m}^2$ em função da magnitude da rugosidade. As regiões mais escuras são os vales da superfície, onde encontravam-se as colônias de microorganismos. Percebe-se que apesar de que o PP pareça pouco rugoso no MEV, a resolução do MFA permite a observação de diversas irregularidades da superfície deste material.

A Figura 5.15 mostra uma outra região da mesma amostra, com maior rugosidade.

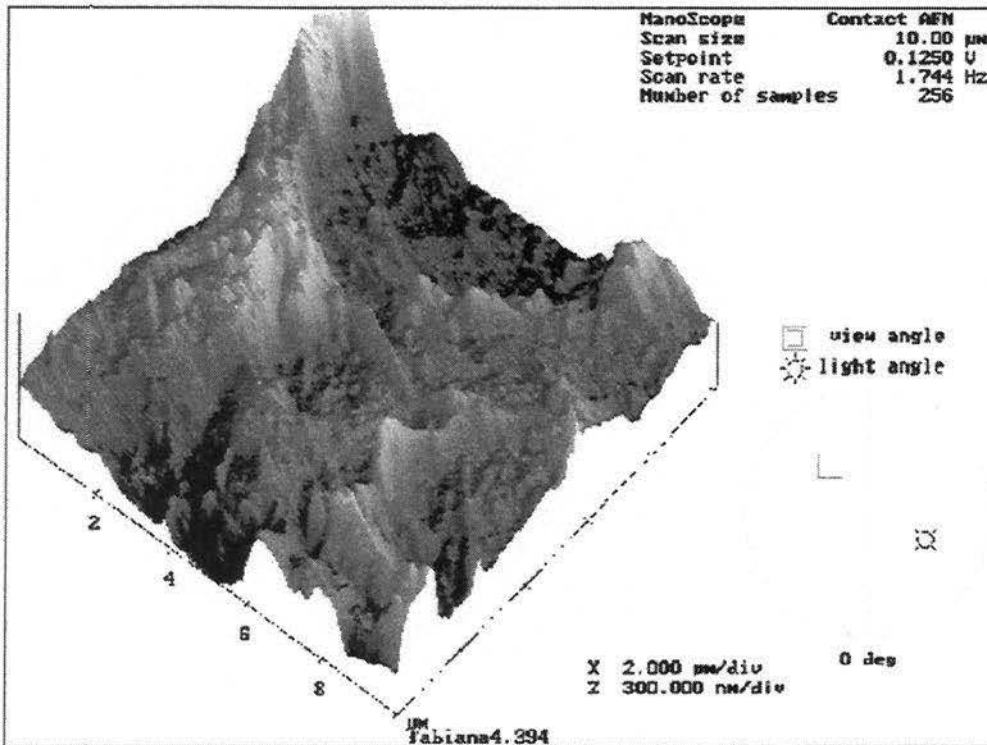


Figura 5.23. Microfotografia em microscópio de força atômica de uma região da superfície de uma amostra de polipropileno após colonização.

A seguir são mostradas fotografias de diferentes regiões da superfície do PP, mostrando o biofilme sobre a superfície do polipropileno (Figura 5.24). As regiões mais claras são as mais profundas, superfície do PP recoberta por uma camada de biopolímeros. Através desta técnica é possível observar variações na espessura do biofilme em diferentes regiões na superfície do PP.

Percebem-se células bacterianas (como a assinalada com um círculo nas Figuras 5.25 e 5.26) envolvidas pelos biopolímeros, formando colônias. Esta técnica mostra as células contendo água, diferentemente da microscopia eletrônica de varredura, onde as células encontram-se desidratadas. O volume das células e a configuração dos poros do biofilme pode apresentar variações quando comparam-se as fotografias obtidas por MEV e por MFA.

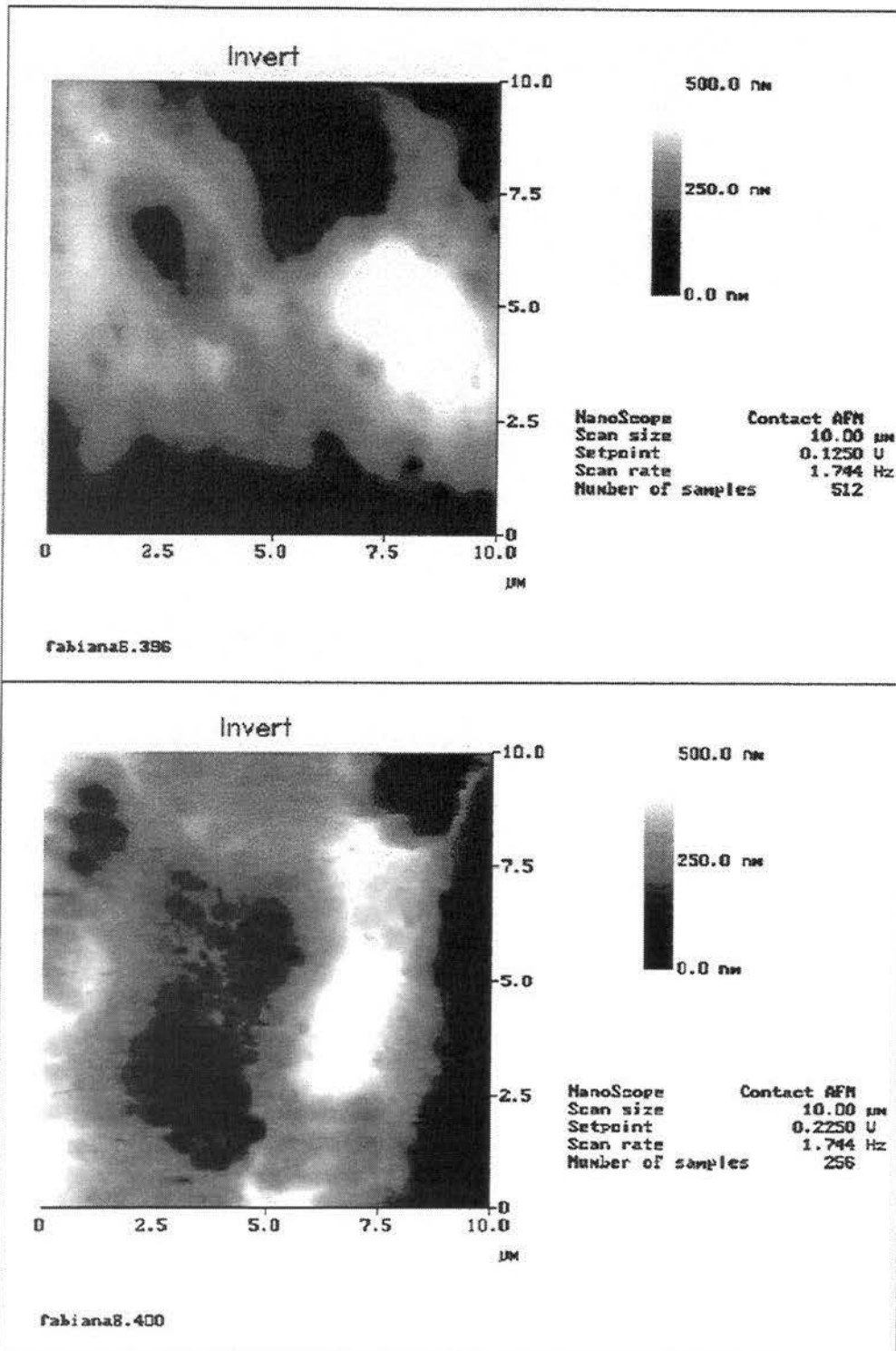


Figura 5.24. Microfotografia em MFA mostrando a estrutura, profundidade e aspecto superficial do biofilme.

A microfotografia a seguir (Figura 5.25) mostra uma porção de biopolímero aderido e algumas pequenas células na forma de cocos (assinalados na figura à direita). A figura à direita foi obtida através de uma deflexão do *cantilever*, onde pode-se perceber a espessura ou o relevo do biofilme.

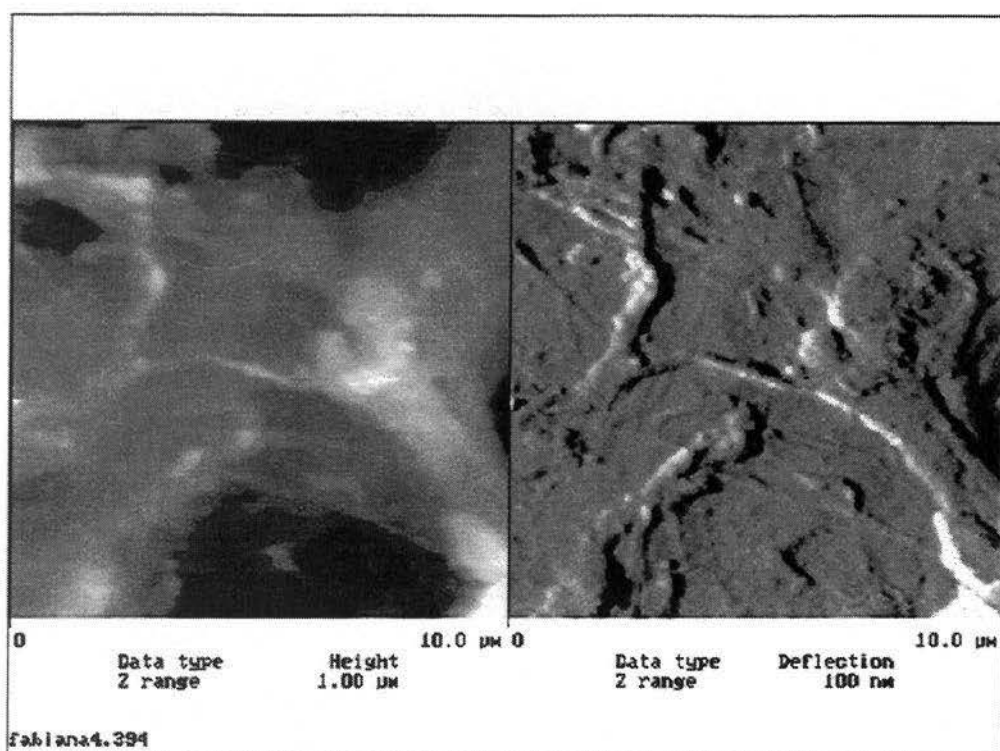


Figura 5.25. Microfotografia da superfície do polipropileno mostrando o biopolímero aderido à uma região pouco rugosa da superfície.

A Figura 5.26 mostra o relevo do biofilme. A microfotografia da esquerda é a mesma mostrada à direita obtida pelo processamento das forças entre o *cantilever* e a amostra.

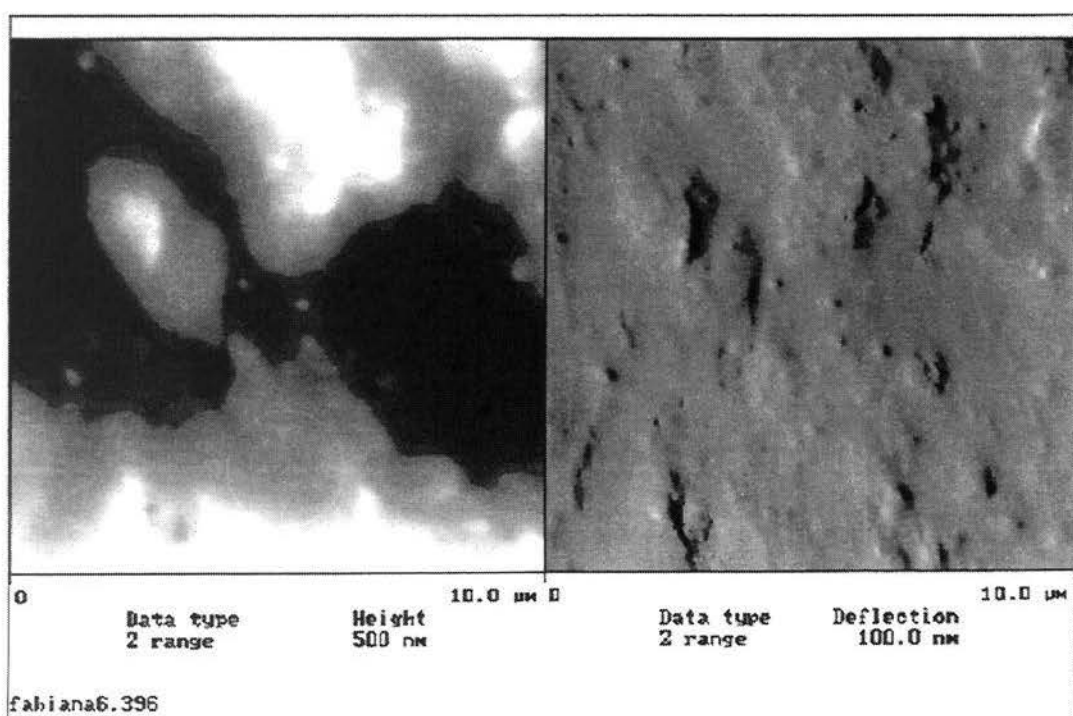


Figura 5.26. Relevo do biofilme, analisado a uma profundidade de 500 nm.

A rugosidade do biofilme e da superfície do PP pôde ser estimada por MFA. A Figura 5.27 mostra o resultado desta análise:

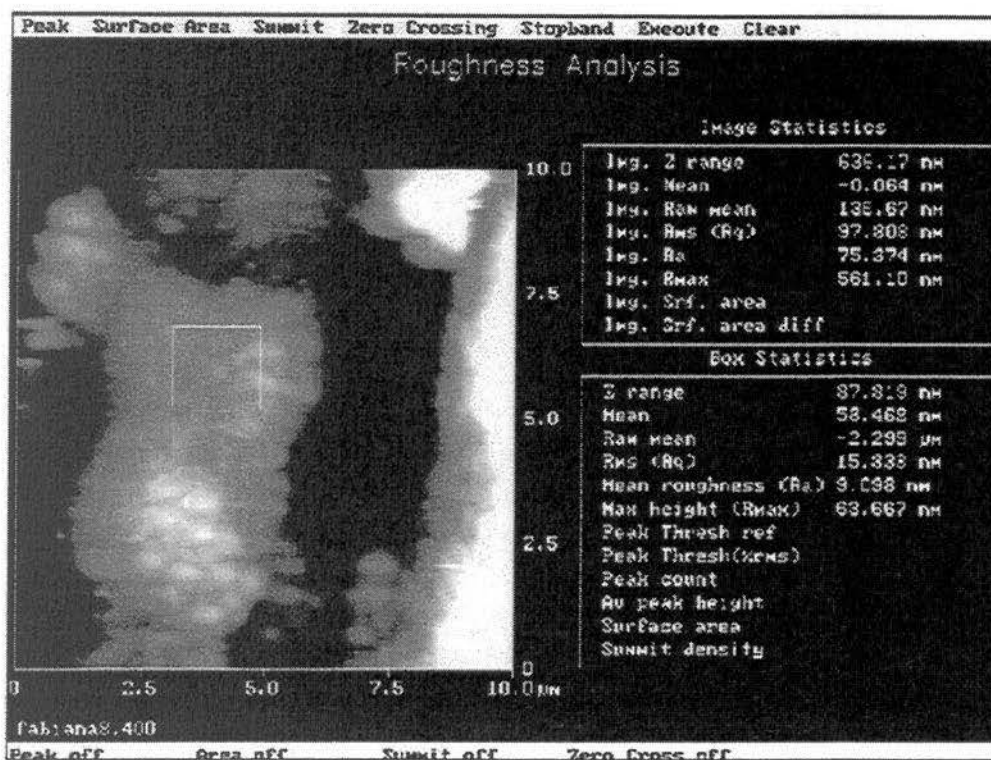


Figura 5.27. Medida da rugosidade do biofilme e da superfície total recoberta.

A rugosidade superficial foi calculada como sendo em torno de 75 nm. Para uma porção com elevada concentração de biomassa (assinalada na figura acima por um retângulo), a rugosidade foi de 9,1 nm aproximadamente. Isto mostra que as células encontram-se agrupadas em colônias, cobertas por biopolímeros. Pode-se observar a presença predominante de cocos na microfotografia acima.

6. CONCLUSÕES

Os distintos resultados obtidos neste estudo permitem estabelecer as seguintes conclusões:

1. O monitoramento da partida de reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso foi possível via acompanhamento do desenvolvimento do biofilme por técnicas microscópicas. Foram identificadas as diversas etapas da formação do biofilme, confirmando a existência de etapas como transporte e adsorção de moléculas orgânicas e células microbianas até a superfície condicionada, adesão inicial das células, reprodução das células aderidas e colonização da superfície.
2. A etapa de desadesão de porções do biofilme não foi observada porém chegou-se ao estado estacionário em 65 dias. Este período coincidiu com a estabilização dos reatores, de acordo com os parâmetros convencionais de monitoramento;
3. A microscopia eletrônica de varredura mostrou-se uma técnica adequada para o estudo de diversos aspectos do biofilme, incluindo a identificação morfológica de alguns gêneros de bactérias. A técnica empregada para a preparação das amostras foi satisfatória, apesar de ter ocorrido o “encolhimento” do biofilme em algumas amostras, as células mantiveram-se intactas;
4. A microscopia de força atômica permitiu a quantificação de características físicas do biofilme, tais como rugosidade e espessura, com alta precisão. Uma vantagem desta técnica é a de não requerer a desidratação e metalização das amostras, preservando as características do biofilme.

5. Os reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso mostraram-se efetivos para a remoção de matéria orgânica dissolvida em escala de bancada usando substratos sintéticos (sacarose e etanol). A conversão ficou em torno de 85 % após estabilização e a carga orgânica alimentada superou $5 \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ em ambos os reatores.

6. O reator alimentado com sacarose foi mais suscetível a variações no pH frente aos choques de carga. A complexidade desta molécula leva à produção de diversos ácidos intermediários consumindo alcalinidade além de maior energia livre de Gibbs para sua degradação em comparação ao etanol. Os valores calculados foram 74 kcal.mol^{-1} para sacarose e $11,8 \text{ kcal.mol}^{-1}$ para o etanol.

7. O polipropileno, nas condições operacionais estudadas, apresentou-se como um material suporte adequado para o crescimento do biofilme em reatores anaeróbios de leito fluidizado inverso.

TRABALHOS FUTUROS

- Estudar o processo usando um efluente industrial;
- Investigar outros materiais suporte, com o objetivo de reduzir a razão de recirculação. As características destes materiais devem combinar massa específica próxima à da água e a granulometria;
- Adequar o respirômetro anaeróbio para permitir que sejam realizados ensaios de atividade metanogênica específica, sendo possível avaliar a contribuição dos microorganismos em suspensão;
- Quantificar o modelo da cinética de acumulação do biofilme proposto qualitativamente neste estudo;
- Adequar a técnica de análise de sólidos voláteis aderidos para materiais com baixo ponto de fusão;
- Estudar outros parâmetros operacionais tais como expansão do leito, tempo de detenção hidráulico, temperatura, limite da carga orgânica removida pelo reator, entre outros.
- Estudar o processo em escala piloto, permitindo o modelamento e aplicação industrial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHRING, B.K. (1994). Status on science and application of thermophilic anaerobic digestion. *Water Science and Technology* 30 (12), pp. 241-249.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; Water Pollution Control Federation (1995). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19th ed. Washington: Editor: Eaton, Andrew O.; Clesceri, Lenore S.; Greenberg, Arnold E.
- ANDERSON, G. K.; OZTURK, I. e SAW, C. B. (1990) Pilot-scale experiences on anaerobic fluidized-bed treatment of brewery wastes. *Water Science and Technology* 22 (9), pp. 157-166.
- ANDREWS, G. e TRAPASSO, R. (1985). The optimal design of fluidized bed biorreactors *Journal WPCF* 57 (2), pp. 143-150.
- BAILEY, J.E. e OLLIS, D.F. (1986). *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2^a Ed. McGraw Hill, 984 p.
- BELKHADIR, R., CAPDEVILLE, B. e ROQUES, H. (1986). Etude descriptive fondamentale et modelisation de la croissance d'un film biologique-I. Etude descriptive fondamentale de la croissance d'un film biologique. *Water Research* 22 (1), pp. 59-69.
- BINNING G., QUATE C.F., GERBER (1986). *Chemistry and Physics*, 56, p. 930.
- BINOT, R.A., BOL, T., NAVEAU, H.P. e NYNS, E.J. Biomethanation by immobilised fluidised cells. *Water Science and Technology* 15(8-9), pp. 103-115, 1983.
- BONNET, B., DOCHAIN, D., STEYER J-P. (1997). Dynamical modelling of an anaerobic digestion fluidized bed reactor. *Water Science and Technology* 36(5), pp. 285-292.
- BORDACS, K. e YOUNG, J. (1997). Biological processes for industrial wastewater treatment. Em: Freeman (Ed.) *Standard Handbook of Hazardous Waste Treatment and Disposal*, 2^a ed., McGraw Hill.
- BREZNAK, J.A. (1984). Activity on surfaces: group report. Em: *Microbial Adhesion and Aggregation*, ed. Marshall, K.C., Dahlem Konferenzen 1984. Springer-Verlag, pp. 203-221.

- BRITZ, T.J., SPANGENBERG, G. e VENTER, C.A. (1994). Acidogenic microbial species diversity in anaerobic digesters treating different substrates. *Water Science and Technology*, 30 (12), pp. 55-61.
- BRYERS, J.D. (1993). The biotechnology of interfaces. *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement*, 74, pp. 98S-109S,
- BUFFIÈRE, P., STEYER, J.P., FONADE, C. e MOLETTÁ, R. (1998). Modeling and experiments on the influence of biofilm size and mass transfer in a fluidized bed reactor for anaerobic digestion. *Water Research* 32(3), pp. 657-668.
- CHARAKLIS, W.G. e MARSHALL, K.C. (1990). *Biofilms*. John Wiley & Sons Inc., p.796
- CHARAKLIS, W.G., (1984). Biofilm development: a process analysis. Em: *Microbial Adhesion and Aggregation*, ed. Marshall, K.C., Dahlem Konferenzen 1984. Springer-Verlag, pp. 137-157.
- CHENG, S., CHEN, W. e HWANG, H. (1997). Biofilm formation: the effects of hydrodynamic and substrate feeding patterns in three phase draft-tube fluidized bed for nitrification process. *Water Science and Technology*, 36 (12) pp. 83-90.
- CHRISTENSEN, B.E. e CHARACKLIS, W.G. (1990). Physical and chemical properties of biofilms. Em: Charaklis, W.G. e Marshall, K.C. (Eds). *Biofilms*. John Wiley & Sons Inc., p.
- COLLINS, A.G., THEIS, T.L., KILAMBI, S., HE, L. e PAVLOSTATHIS, S.G. (1998) Anaerobic treatment of low-strength domestic wastewater using an anaerobic expanded bed reactor. *Journal of Environmental Engineering*, Julho, pp. 652-659.
- COMTE, M.P.; BASTOUL, D.; HEBRARD, G.; ROUSTAN, M. e LAZAROVA, V. (1997). Hydrodynamics of a three-phase fluidized bed – the inverse turbulent bed. *Chemical Engineering Science*, 52 (21-22) pp. 3971-3977.
- CONFER, D.R. e BRUCE E.L. (1998). A conceptual model describing macromolecule degradation by suspended cultures and biofilms. *Water Science and Technology*, 37 (4-5) pp. 231-234.
- DEFOUR, D., DERYCKE, D., LIESSENS, J. e PIPYN, P. (1994). Field experience with different systems for biomass accumulation in anaerobic reactor technology.

Water Science and Technology, 30(12), pp.181-191.

- DELORNE, A.J. e KAPUSCINSKI, B. (1990). On performing experimental studies on transient states of continuous-flow methanogenic reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 35, pp. 746-750.
- DENAC, M., GRIFFIN, K., LEE, e GREENSFIELD, P.F. (1988). Selection of controlled variables for a high rate anaerobic reactor. *Environmental Technology Letters*, 9, pp. 1029-1040.
- DERJAGUIN, B.V. e CHURAEV, N.V. (1989). The current state of the theory of long-range surface forces. *Colloids and Surfaces*, 41, pp. 223-237.
- EHLINGER, F., AUDIC, J.M. e FAUP, G.M. (1988). Correlation between the compositions of biofilms and biological activities during the start-up of anaerobic fluidized bed reactors. *Nice Conference*, pp. 533-535.
- EHLINGER, F., AUDIC, J.M. e FAUP, G.M. (1989). Influence of seeding conditions on initial biofilm development during the start-up of anaerobic fluidized bed reactors. *Water Science and Technology* 21, pp. 157-165.
- EIGHMY, T.T., MARATEA, D., BISHOP, P.L. (1983). Electron microscopy examination of wastewater biofilm formation and structural components. *Applied and Environmental Microbiology* 45 (6), pp. 1921-1931.
- ENGER, W.A. e HEIJNEN, J.J. (1988). Review on the application of anaerobic fluidized bed reactors in wastewater treatment. *Biotechnology* 2, pp. 89-111.
- ENGLERT, G. (1997). Aplicação de técnicas eletroquímicas no estudo da corrosão de aço-carbono e de aço inoxidável AISI 304 em presença de microrganismos. Tese de Doutorado, PPGEM, UFRGS.
- FAN L. MUROYAMA, K. e CHERN, S. (1982) Hydrodynamics considerations of constrained inverse fluidization in liquid-solid and gas-liquid-solid systems. *Chemical Engineering Journal*, 24, pp. 143-150.
- FITCH, M.W., MURPHY, J.B. e SOWELL, S.S. (1999). Biological fixed-film systems. *Water Environmental Research*, 71(5), pp. 638-656.
- FOGLER, H.S. (1992). *Elements of Chemical Reaction Engineering* 2nd Ed. Prentice

Hall Int. Ed., 838 p.

- FOUST, A. (1979). *Principles of Unit Operations* 2nd ed., John Wiley & Sons, NY.
- FUERSTENAU, M. (1982) The flotation of oxides and silicates minerals. Em: KING, P. (Editor). *Principles of Flotation*, Cap. 7. South African Institute of Mining and Metallurgy, Johannesburg, South Africa pp. 109-158.
- FURUMAI, H., KUBA, T., IMAI, T., KUSUDA, T. (1991) Transient responses of wastewater treatment and biomass development in a methanogenic fluidized bed. *Water Science and Technology* 23(7-9), pp. 1327-1336.
- FYNN, G.H., WADSWORTH, A., IBBA, M. e SYAFILA, M. (1988). Regulation of acetogenesis by gas recirculation and potential application to control of end product formation by immobilised acidogenic cultures. Nice Conference '88, pp. 555-556.
- GARCÍA-BERNET, D., BUFFIÈRE, P. e ELMALEH, S. (1998). Application of the down flow fluidized bed to the anaerobic treatment of wine distillery wastewater. *Water Science and Technology*, 38 (8-9), pp. 393-399.
- GARCÍA-CALDERÓN, D.; BUFFIERE, P., MOLETTÁ, R.; ELMALEH, S. (1998^a). Influence of biomass accumulation on bed expansion characteristics of a down-flow anaerobic fluidized-bed reactor. *Biotechnology and Bioengineering* 57(2), pp. 136-144.
- GARCÍA-CALDERÓN, D.; BUFFIERE, P.; MOLETTÁ, R. e ELMALEH, S. (1998^b). Anaerobic digestion of wine-distillery wastewater in down-flow fluidized-bed reactor. *Water Research* 32(12), pp. 3593-3600.
- GOLDSTEIN, J. (1981). *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. Plenum Press, NY, 665 p.
- GUERRERO, L., OMIL, F., MÉNDEZ, R. e LEMA, J.M. (1999). Anaerobic hydrolysis and acidogenesis of wastewaters from food industries with high content of organic solids and protein. *Water Research* 33 (15), pp. 3281-3290.
- GUJER, W. e ZEHNDER, J.B. (1983). Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Science and Technology* 15(8-9), pp. 127-167.
- HE, W.S. e PING, Z. (1994). Organic matter degradation kinetics in a fluidized bed bioreactor. *Water Research* 28(9), pp. 2021-2028.

- HENZE, M. e HARREMÖES, P. (1983). Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors – A literature review. *Water Science and Technology* 15(8-9), pp. 1-101.
- HERMANOWICZ, S.W. e CHENG, Y.W. (1988). Biological fluidized bed reactor: hydrodynamics, biomass distribution and performance. Nice Conference, pp. 213-222.
- HERNANDEZ, M., VIDARD, V., CALVEZ, V., AURELLE, Y. e CAPDEVILLE, B. (1988). Fundamental study of the interactions between microorganisms and plastic supports. Nice Conference, pp. 565-566.
- HICKEY, R.F. e OWENS, R.W. (1981). Methane generation from high strength industrial wastes with the anaerobic biological fluidized bed. *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, 11, pp. 399-413.
- HICKEY, R.F. e WU, W.M. (1991). Start-up, operation, monitoring and control of high-rate anaerobic treatment systems. *Water Science and Technology*, 24 (8), pp. 207-255.
- HOLT, G.H. et al. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 9ª edição.
- IBRAHIM, Y.A.A.; BRIENS, CEDRIC L.; MARGARITIS, ARGYRIOS; BERGONGNOU e MAURICE, A. (1996). Hydrodynamic characteristics of a three-phase inverse fluidized-bed column. *AIChE Journal* 42 (7) pp. 1889-1900.
- ISRAELACHVILI, J.N. (1985). Intermolecular and surface forces with applications to colloidal and biological systems. Academic Press 296 p.
- IZA, J. (1991). Fluidized bed reactors for anaerobic wastewater treatment. *Water Science and Technology* 24 (8), pp. 109-132.
- JERIS, J.S. Industrial wastewater treatment using anaerobic fluidized bed reactors. *Water Science and Technology* 15(8-9), pp.169-176, 1983.
- KARAMANEV, D.G. e NIKOLOV, L.N. (1992). Bed expansion of liquid-solid inverse fluidization. *AIChE Journal*, 38 (12), pp. 1916-1922.
- KARAMANEV, D.G. e NIKOLOV, L.N. (1996). Application of inverse fluidization in wastewater treatment: from laboratory to full-scale bioreactors. *Environmental*

- Progress, 15 (3), pp. 194-196.
- KJELLEBERG, S. (1984). Adhesion to inanimate surfaces. Em: *Microbial Adhesion and Aggregation*, ed. Marshall, K.C., Dahlem Konferenzen 1984. Springer-Verlag, pp. 51-70.
- MARAGNO, A.L.F.C. e CAMPOS, J.R. (1992). Treatment of wastewater with a low concentration of organics using an anaerobic fluidized bed reactor. *Water Science and Technology* 25 (7), pp. 179-191.
- MARÍN, P., ALKALAY, D., GUERRERO, L., CHAMY, P., ALKALAY, D. e SCHIAPPACASSE, M.C. (1999). Design and start-up of an anaerobic fluidized bed reactor. *Water Science and Technology* 40 (8), pp. 63-70.
- MATHIOT, S., ESCOFFIER, Y., EHLINGER, F., COUDERC, J.P., LERYIS, J.P. e MOLETTÁ, R. (1992). Control parameter variations in an anaerobic fluidised bed reactor subjected to organic shock loads. *Water Science and Technology* 25 (7), pp. 93-101.
- MERAZ, M. e ALVAREZ-RAMIREZ, J. (2000). A simple model for the dynamics of immobilization of anaerobic bacteria on plastic support. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 75(2), pp. 152-158.
- METCALF & EDDY Inc. (1991). *Wastewater Engineering, Treatment, Disposal and Reuse*, 3rd Ed., McGraw Hill.
- MOLETTÁ, R., ESCOFFIER, Y., EHLINGER, F., COUDERT, J.P. e LEYRIS, J.P. (1994). On-line automatic control system for monitoring an anaerobic fluidized bed reactor: response to organic overload. *Water Science and Technology* 30(12), pp. 11-20.
- MONTEGGIA, L.O. (1991). The use of methanogenic specific activity for controlling anaerobic reactors. Ph.D. Thesis, University of Newcastle.
- MONTEGGIA, L.O. (1997). Proposta de metodologia para avaliação do parâmetro atividade metanogênica específica. Em: 19^o Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Setembro, Foz do Iguaçu.
- MOTTA MARQUES, D.M.L., CAYLESS, S. e LESTER, J. (1990). Start-up regimes for anaerobic fluidised systems treating dairy wastewater. *Biological Wastes* 34, pp.

191-202.

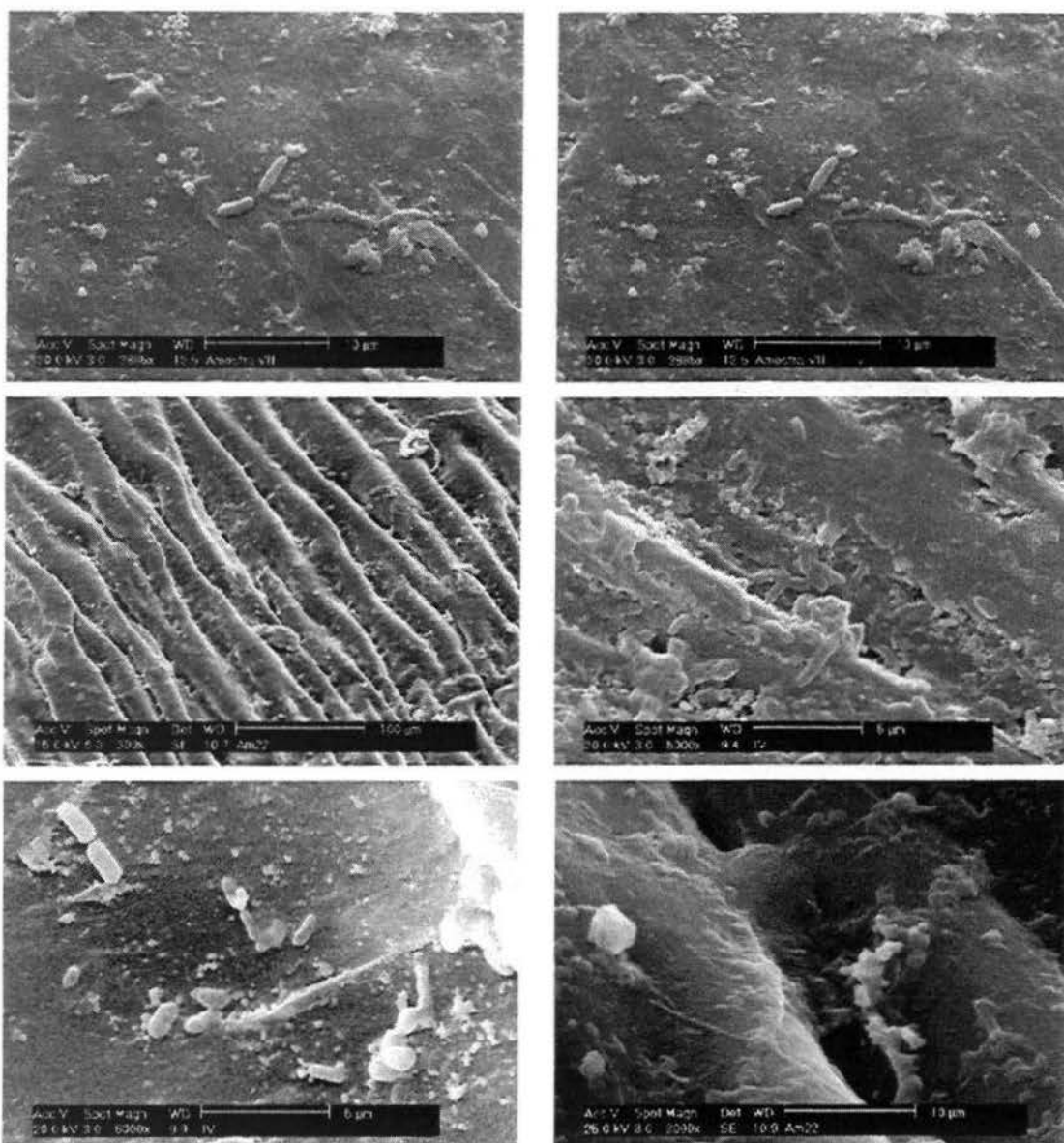
- NEU, T.R. (1996). Significance of bacterial surface-active compounds in interaction of bacteria with interfaces. *Microbiological Reviews*, American Society for Microbiology 60 (1), pp. 151-166.
- NIKOLOV, V. R. e NIKOV, I. (1994). Liquid-solid mass transfer in three-phase inverse fluidized bed (TPIFB). *Hungarian Journal of Industrial Chemistry* 22 (2), p 125-128.
- NIKOV, I. e KARAMANEV, D. (1991). Liquid-solid mass transfer in inverse fluidized bed. *AIChE Journal* 37 (5), pp. 781-784.
- NORRMAN, J. Anaerobic treatment of a black liquor evaporator condensate from a Kraft mill in three types of fixed film reactors. *Water Science and Technology* 15(8-9), pp.247-259, 1983.
- NYNS, E.J. e GENDEBIEN, A. Landfill gas: from environment to energy. *Water Science and Technology* 27(2), pp.253-259, 1993.
- PASHLEY, R.M. e ISRAELACHVICI, J. N. (1981). A comparison of surface forces and interfacial properties of mica in purified surfactant solutions. *Colloids and Surfaces* 2, pp. 155-168.
- PAVLOSTATHIS, S.G. e GOMEZ, E.G. (1991) Kinetics of anaerobic treatment. *Water Science and Technology* 24 (8), pp. 35-59.
- RAUCH, W., VANHOOREN, H e VANROLLEGHEM, A. (1999). A simplified mixed-culture biofilm model *Water Research* 33 (9), pp. 2148-2162.
- RIFFAT, R., SOMCHAI, D. e KRONGTHAMCHAT, K. (1999). Anaerobic processes. *Water Environmental Research*, 71(5), pp. 656-676.
- ROBB, I.D. (1984). Stereo-biochemistry and function of polymers. Em: *Microbial Adhesion and Aggregation*, ed. Marshall, K.C., Dahlem Konferenzen 1984. Springer-Verlag. pp. 34-49
- RUBIO, J. AND HOBERG, H. (1993). The process of separation of fine mineral particles by flotation with hydrophobic polymeric carrier. *Int. J. Miner. Process.*, vol. 37, pp.109-122.
- RUTTER, P.R. e VINCENT, B. (1984). Physicochemical interactions of the substratum,

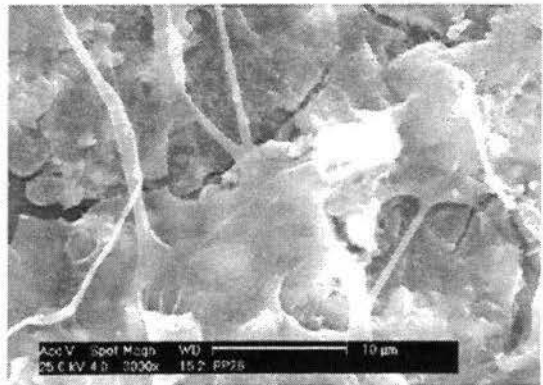
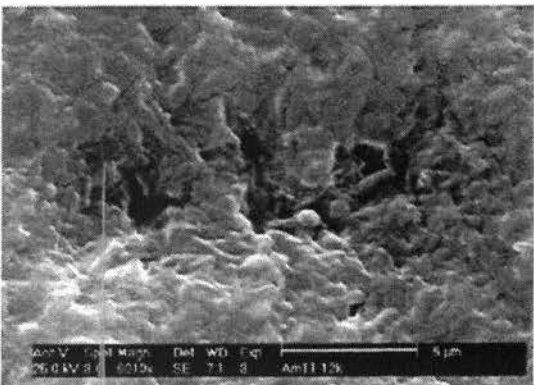
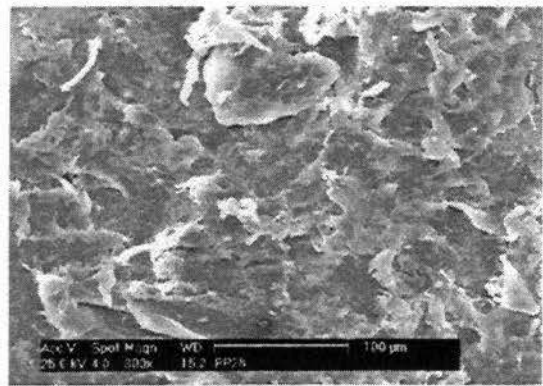
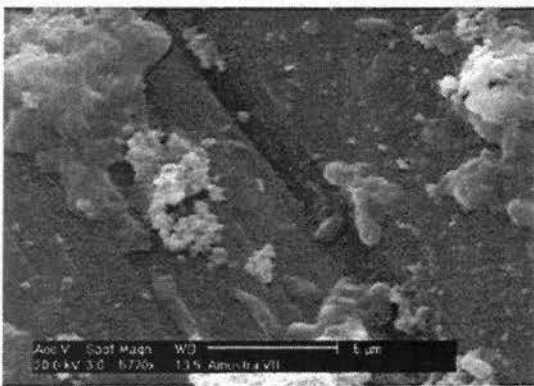
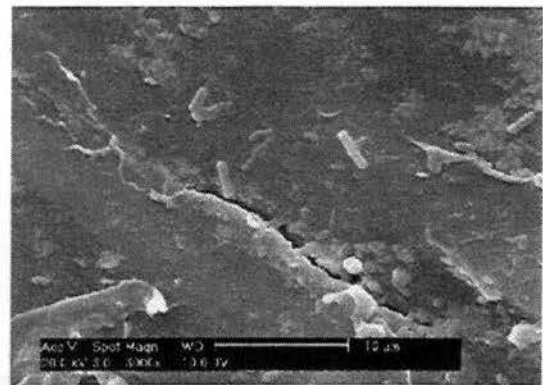
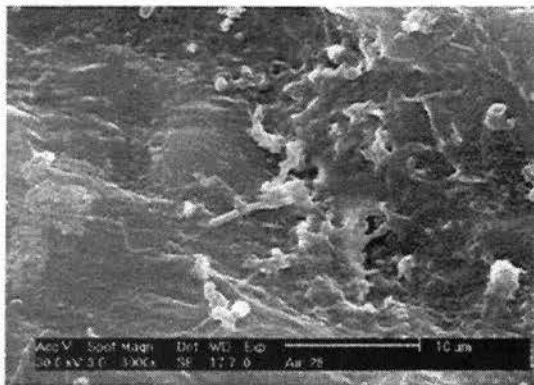
- microorganisms and fluid phase Em: Microbial Adhesion and Aggregation, ed. Marshall, K.C., Dahlem Konferenzen 1984. Springer-Verlag, pp. 21-38.
- RUTTER, P.R. *et al.* (1984). Mechanisms of adhesion: Group report. Em: Microbial Adhesion and Aggregation, ed. Marshall, K.C., Dahlem Konferenzen 1984. Springer-Verlag, pp. 5-19.
- SALKINOJA-SALONEM, M.S., NYNS, E.J., SUTTON, P.M., VAN DEN BERG, L. e WHEATLEY, A.D. (1983). Starting-up of an anaerobic fixed-film reactor. *Water Science and Technology* (15), pp. 305-308.
- SANZ, I.e FDZ-POLANCO, F. (1990). Low temperature treatment of municipal sewage in anaerobic fluidized bed reactors. *Water Research* 24(4), pp. 463-469.
- SHIEH, W.K. e MULCAHY, L.T. Fluidized bed biofilm reactor (FBBR) kinetics –a rational design and optimization approach. *Water Science and Technology* 15(8-9), pp. 321-332, 1983.
- SILVEIRA, I., (2000). Metodologias avançadas para avaliação de biomassa metanogênica em reatores de baixa carga. Dissertação de Mestrado, IPH Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- STEYER, J.P., BUFFIÈRE, P., ROLLAND, D. e MOLETTÁ, R. (1999) Advanced Control of Anaerobic Digestion Process Through Disturbances Monitoring. *Water Research* 33 (9), pp. 2059-2068.
- TCHOBANOGLIOUS, G. e CRITES, R. (1998). Small and decentralized wastewater management systems. WCB-McGraw Hill.
- TESSELE, F., ENGLERT, G., e MONTEGGIA, L.O. (2000). Materiais Suporte Alternativos para Reatores Anaeróbios de Leito Fluidizado Inverso. XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, AIDIS 2000. Anais em CD-ROM.
- THAUER, R.K., JUNGERMANN, K. e DECKER, K. (1977) Energy Conservation in Chemotrophic Anaerobic Bacteria. *Bacteriological Reviews*, Mar, 41, pp. 100-180.
- VAN HAANDEL, A.C. e LETTINGA, G. (1994). Tratamento Anaeróbio de Esgotos Sanitários em Regiões de Clima Quente. Epgraf,
- VAN LIER, J.B., BOERSMA, F., DEBETS, M.M.W.H. e LETTINGA, G. (1994). High

- rate termophilic anaerobic wastewater treatment in compartmentalized upflow reactors. *Water Science and Technology* 30 (12), pp. 251-261.
- VAN LIER, J.B., REBAC, S. e LETTINGA, G. (1997). High rate anaerobic wastewater treatment under psychrophilic and termophilic conditions. *Water Science and Technology* 35 (10), pp. 199-206.
- VAN LOOSDRECHT, M.C.M., LYKLEMA, J., NORDE, W. e ZEHNDER, A. (1990). Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiological Reviews*, pp. 75-87, Mar.
- WEIGANT, W.M. *Termophilic Anaerobic Digestion for Water and Wastewater Treatment*. Wageningen: Wageningen Agricultural University, 1986, Ph.D Thesis.
- WEILAND, P. e ROZZI, A. (1991). Start-up, operation, monitoring and control of high rate anaerobic treatment systems: discussor's report. *Anaerobic treatment technology for municipal wastewater*. *Water Science and Technology* 24 (8), pp. 257-277.
- WU, C.S., HUANG, J.S., YAN, J.L., JIH, C. (1998) Consecutive reaction kinetics involving distributed fraction of methanogens in fluidized-bed bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering* 57(3), pp. 367-379.
- YALAMANCHILI, M.R., VEERAMASUNENI, S., AZEVEDO, M.A.D., MILLER, J.D. (1998). Use of atomic force microscopy in particle science and technology research, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 133, pp. 77-88.
- YEE, C. e SHIEH, W. (1988). Effects of microcarrier surface characteristics on start-up of anaerobic fluidized bed reactors. *Nice Conference*, pp. 539-540.
- ZOUTBERG, G.R. e BEEN, P. (1997). The BIOBED[®] EGSB (Expanded granular Sludge Bed) system covers shortcomings of the upflow anaerobic sludge blanket reactor in the chemical industry. *Water Science and Technology* 35(10), pp. 183-188.

ANEXO I

Etapas de desenvolvimento do biofilme do reator alimentado em Etanol.





Os ensaios de Atividade Metanogênica Específica foram prejudicados por diversos fatores:

- i) Dificuldades na medição dos sólidos voláteis aderidos. Em função deste impedimento, a atividade metanogênica específica para o sistema com polipropileno foi expressa por unidade de área disponível e não por massa de sólidos voláteis;
- ii) Problemas técnicos com o cromatógrafo gasoso. Os resultados foram expressos em termos de produção de biogás e não de metano, uma vez que sua composição não foi medida.
- iii) A não adequação do respirômetro anaeróbico ao sistema contendo as partículas de polipropileno. Em função da baixa massa específica do PP a mistura foi deficiente no sistema convencional, prejudicando o contato do substrato com o biofilme.
- iv) Para uma correta comparação entre os diferentes substratos seria necessária a padronização do ensaio para o etanol, encontrando as condições ótimas de teste.
- v) No período de realização dos ensaios o Reator B apresentou problemas operacionais, não sendo possível a realização dos ensaios com a biomassa deste reator.

Para que estas dificuldades pudessem ser superadas seriam necessários 3 a 4 meses de trabalho em laboratório, o que não teria sido viável no prazo de uma dissertação de mestrado.

Os resultados obtidos nestas condições são mostrados a seguir (Tabela II-1).

Tabela II-1. Resultados obtidos nos testes de AME usando etanol e acetato como substratos.

Teste	Descrição	Duração, h	Volume de AME máx*	gás, mL
1	Reator A + Etanol	10,3	87,4	0,72 mL Biogás.g SVT ⁻¹ .h ⁻¹
2	Reator A + Acetato	38,3	115,6	0,32 mL Biogás.g SVT ⁻¹ .h ⁻¹
3	Lodo Liner + Acetato	20,1	139,5	0,26 mL Biogás.g SVT ⁻¹ .h ⁻¹
4	Lodo Liner + Etanol	124,3	180	0,30 mL Biogás.g SVT ⁻¹ .h ⁻¹
5	Biofilme PP + Etanol	12,2	18,7	25,1 mL Biogás.g m ⁻² .h ⁻¹
6	Biofilme PP + Acetato	89,7	46,2	61,9 mL Biogás.g m ⁻² .h ⁻¹

*Expressa em volume total de biogás

As Figuras II-1 a II-6 mostram as curvas obtidas nestes ensaios 1 a 6, em termos de produção de biogás.

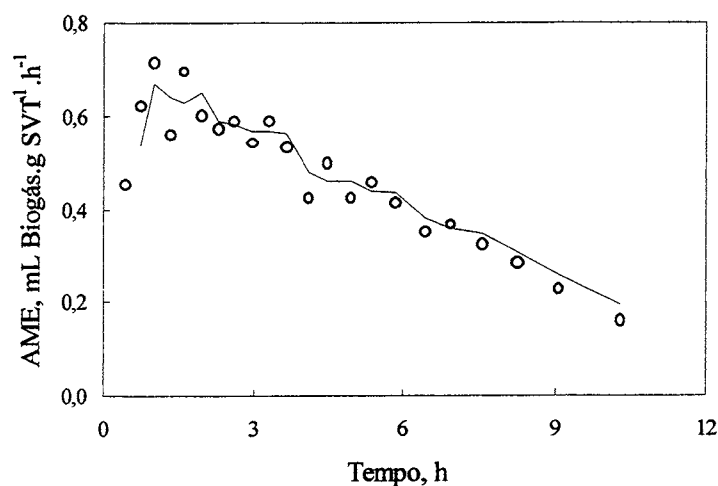


Figura II-1. Atividade metanogênica específica com o lodo em suspensão no Reator A. Substrato = Etanol, 2000 mg.L⁻¹.

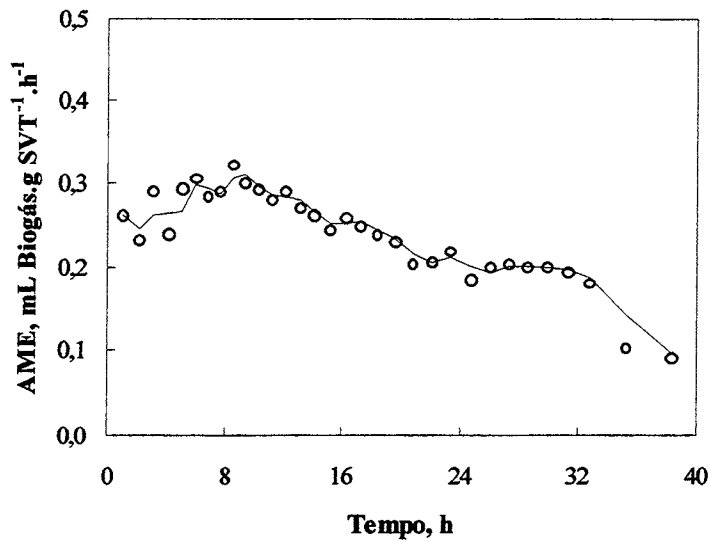


Figura II-2. Atividade metanogênica específica com o lodo em suspensão no Reator A. Substrato = Acetato, 2000 mg.L⁻¹.

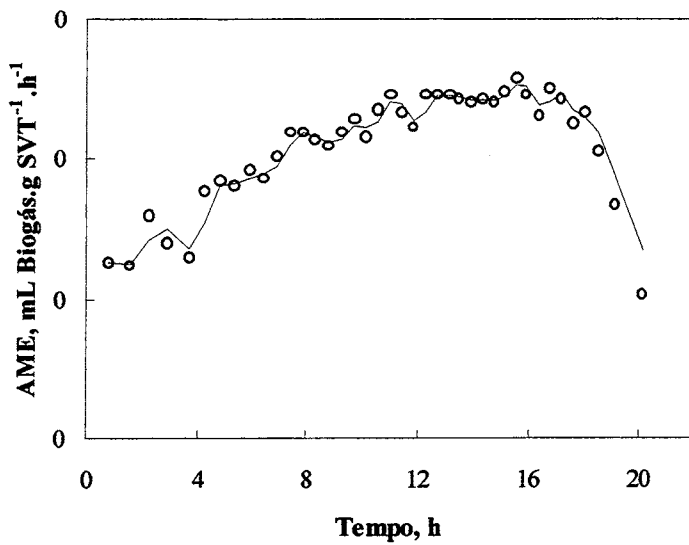


Figura II-3. Atividade metanogênica específica com o lodo da empresa *Liner* (Reator UASB). Substrato = Acetato, 2000 mg.L⁻¹.

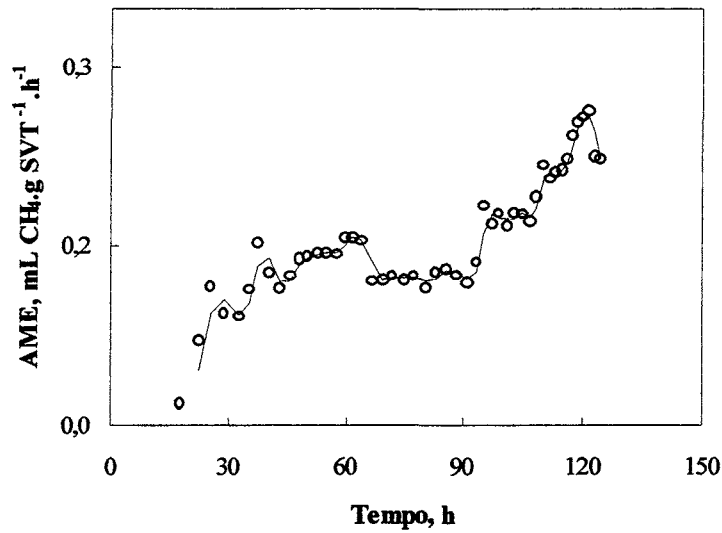


Figura II-4. Atividade metanogênica específica com o lodo da empresa *Liner* (Reator UASB). Substrato = Etanol, 2000 mg.L⁻¹.

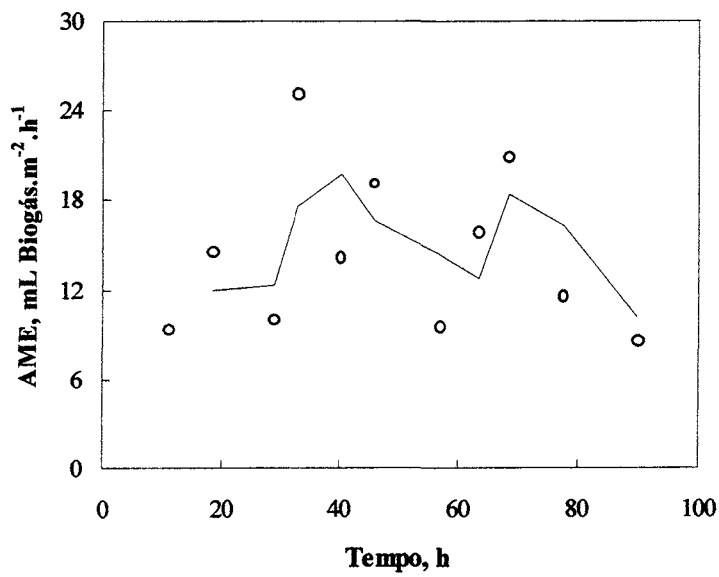


Figura II-5. Atividade metanogênica específica com o polipropileno retirado do reator A. Substrato = Acetato, 2000 mg.L⁻¹.

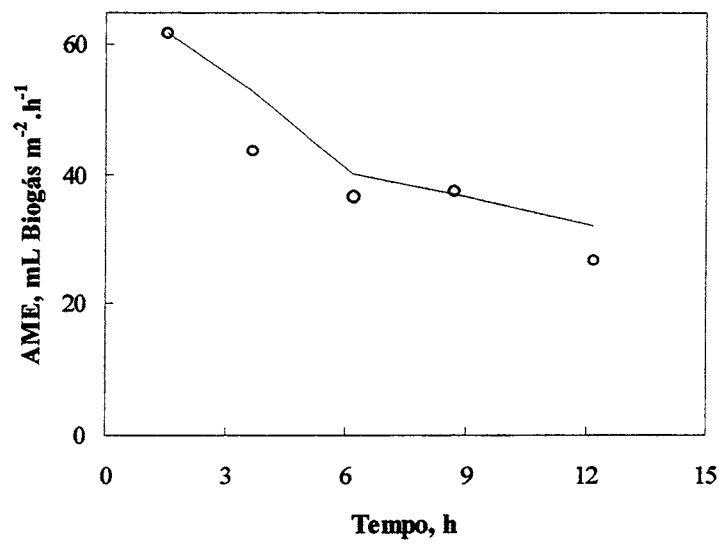


Figura II-6. Atividade metanogênica específica com o polipropileno retirado do reator A. Substrato = Etanol, 2000 mg.L⁻¹.