

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO,**  
**MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS**

**REMOÇÃO, TRATAMENTO E VALORAÇÃO DE**  
**ESCUMA PROVENIENTE DE REATORES UASB**  
**APLICADOS AO TRATAMENTO DE ESGOTO**  
**DOMÉSTICO**

**Aracele Vieira Santos**

**Belo Horizonte**  
**2014**

**REMOÇÃO, TRATAMENTO E VALORAÇÃO DE  
ESCUMA PROVENIENTE DE REATORES UASB  
APLICADOS AO TRATAMENTO DE ESGOTO  
DOMÉSTICO**

**Aracele Vieira Santos**

**Aracele Vieira Santos**

**REMOÇÃO, TRATAMENTO E VALORAÇÃO DE  
ESCUMA PROVENIENTE DE REATORES UASB  
APLICADOS AO TRATAMENTO DE ESGOTO  
DOMÉSTICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Saneamento

Linha de pesquisa: Tratamento de águas residuárias

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto de Lemos Chernicharo

Belo Horizonte

Escola de Engenharia da UFMG

2014

S237r

Santos, Aracele Vieira.

Remoção, tratamento e valoração de espuma proveniente de reatores UASB aplicados ao tratamento de esgoto doméstico [manuscrito] / Aracele Vieira Santos. – 2014.  
xiii, 116 f., enc.: il.

Orientador: Carlos Augusto de Lemos Chernicharo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.

Apêndice: f. 113-115.

Bibliografia: f. 102-112

1. Engenharia sanitária - Teses. 2. Saneamento - Teses. 3. Águas residuais - Teses. I. Chernicharo, Carlos Augusto de Lemos.  
II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia.  
III. Título.

CDU: 628(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Engenharia

Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos

Avenida Antônio Carlos, 6627 - 4º andar - 31270-901 - Belo Horizonte - BRASIL

Telefax: 55 (31) 3409-1882 - posgrad@desa.ufmg.br

<http://www.smarh.eng.ufmg.br>

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Remoção, Tratamento e Valoração de espuma Proveniente de Reatores UASB  
Aplicados ao Tratamento de Esgoto Doméstico

**ARACELE VIEIRA SANTOS**

Tese defendida e aprovada pela banca examinadora constituída pelos Senhores:

  
Prof. CARLOS AUGUSTO DE LEMOS CHERNICHARO

  
Prof. CLAUDIO LETTE DE SOUZA

  
Profa. JULIANA CALÁBRIA DE ARAÚJO

  
Prof. EUGENIO FORESTI

  
Profa. MAGALI CHRISTE CAMMAROTA

Aprovada pelo Colegiado do PG SMARH

Versão Final aprovada por

Profa. Juliana Calábria de Araújo  
Coordenadora

Prof. Carlos Augusto de Lemos Chernicharo  
Orientador

Belo Horizonte, 28 de outubro de 2014.

*“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens,  
mas em ter novos olhos” (Marcel Proust)*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por seu amor incondicional, por realizar o desejo do meu coração, pelo aprendizado e por transformar todos os momentos difíceis em momentos surpreendentemente agradáveis. Obrigada pela paz e a segurança necessária para vencer todas as dificuldades. A Ele, toda honra e toda glória.

Aos meus amados pais, pelo amor incondicional. O meu pai pelo incentivo e exemplo de caráter e honestidade. A minha mãe pela sua amizade e seu exemplo de superação, determinação, sabedoria e pelas palavras de incentivo que tem me ajudado a enfrentar os desafios. A minha eterna gratidão a vocês.

Ao meu admirável irmão pelo apoio, incentivo e especialmente pelo seu exemplo de coragem e superação.

Ao meu prezado Professor Carlos pela orientação, sinceridade, incentivo, exemplo de profissionalismo, generosidade e, sobretudo, pela credibilidade dada ao meu trabalho.

Ao meu amigo Artur, pela generosidade, aprendizado e incentivo, além da oportunidade de ter convivido com pessoas tão especiais que fizeram me sentir em casa. Meu sincero agradecimento a família Engenho 9!

A minha amiga Érika pela amizade construída, apoio, carinho e pelas conversas diárias que tínhamos durante o curso.

A todos os colaboradores que me auxiliaram em diferentes etapas da pesquisa, contribuindo de forma decisiva no desenvolvimento deste trabalho: Lucas, Vanessa, Augusto, Priscila Silva, Ingrid, Carla, Tomas, Priscila Neves, Ariane e o amigo Gonçalo.

A Suzane pela preciosa colaboração, amizade, apoio e assistência na administração dos projetos com competência e dedicação.

A Iara a minha gratidão pelo carinho e suporte com os avisos, documentos e matrículas.

Ao “Seu Raimundo” pelo auxílio durante as coletas de lodo anaeróbico, determinantes para a realização dos experimentos.

Aos demais professores, colegas e amigos do grupo de pesquisa em Saneamento Grasi e Valéria, Danusa e Lívia Ventura (grandes amigas), Bernardo, Túlio, Tiago, Bruna, Débora, Paulo Gustavo, Carol, Cláudio Leite, Juliana Calábria, Sérgio Aquino, Jackson, André, com quem dividir diferentes momentos.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia, Análise Físico-química e de Minas (Alberto) pela convivência, compreensão e bom humor na rotina de trabalho com a espuma.

Aos parceiros da ETE Laboreaux, Ademir, Mayara e Weber e demais colaboradores, pelo apoio prestado na realização da pesquisa.

Ao motorista da Escola de Engenharia Ualney, pela rotina de viagem até Itabira, sempre com tranquilidade e bom humor.

A todos os membros examinadores da tese pelas relevantes contribuições para a consolidação da pesquisa.

A Fundação de Amparo e Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo suporte financeiro para realização deste trabalho.



## RESUMO

A pesquisa teve como objetivo avaliar cenários para o gerenciamento da espuma proveniente de reatores UASB tratando esgoto doméstico. No primeiro cenário, foi avaliado o efeito das enzimas comerciais Lipolase 100L e papaína crua sobre a biodegradabilidade anaeróbia da espuma, com vistas ao aumento da produção de metano. Foram realizados testes preliminares, em que a espuma foi submetida à hidrólise por 24 horas, empregando diferentes concentrações de enzimas (0; 0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1,0 e 5,0% m/v), nos quais foi monitorada a produção de ácidos. Identificada a concentração de enzima mais eficiente, a espuma foi submetida a testes de biodegradabilidade anaeróbia. As condições experimentais avaliadas para os testes foram estabelecidas com base nas condições operacionais do reator UASB (30°C, pH 7,0). Os resultados da cinética de hidrólise mostraram que a concentração a 1% (m/v) apresentaram maior produção de ácidos para ambas as enzimas comerciais. Ademais, verificou-se que a papaína bruta apresentou desempenho superior ao da lipase Lipolase 100L na biodegradação anaeróbia da espuma, conforme confirmado pelas maiores produções de metano, com valor médio de 950 ml e 720 mL, além de maiores eficiências de remoção de DQO (79 e 72%) e de O&G (80 e 63%), respectivamente. No segundo cenário, buscou-se estabelecer um protocolo de descarte de espuma em um dispositivo de remoção hidrostática, de forma a possibilitar o controle da acumulação desse material no interior de STF (separadores trifásicos) de um reator UASB, operando em escala plena. Adicionalmente, foi avaliada a eficácia de um sistema de peneiramento e de desidratação de espuma com vistas à redução dos custos de destinação final e de elevação do potencial de aproveitamento energético da espuma. Os resultados evidenciaram que uma frequência de dois descartes semanais resultou no controle efetivo de acumulação da espuma no STF, conforme confirmado pela substancial redução do volume de espuma após a operação de descarte (apenas 10 a 40% de material remanescente). Complementarmente, o sistema de peneiramento e de desidratação da espuma possibilitou a efetiva separação da fração grosseira e uma elevada eficiência do leito de secagem, com uma redução de cerca de 80% do volume, em apenas 60 horas de desidratação. Os dados mostraram ainda que a espuma retida na peneira apresenta maior potencial energético que a espuma desidratada no leito de secagem, com 7,1 MJ.d<sup>-1</sup> e 5,8 MJ.d<sup>-1</sup>, respectivamente. Esses resultados permitem conferir importantes benefícios em termos de redução dos custos de disposição final da espuma, como também de elevação do potencial de aproveitamento energético da estação de tratamento de esgoto, tendo em vista suas características favoráveis para utilização em processos térmicos de geração de energia.

**Palavras-chave:** gerenciamento de espuma, esgoto doméstico, tratamento enzimático, reator UASB, remoção hidrostática.

## ABSTRACT

The research aimed to evaluate scenarios for managing the scum from UASB reactors treating domestic sewage. In the first scenario, the effect of the commercial enzymes Lipolase 100L and crude papain on the anaerobic biodegradability of scum was evaluated, with a view to increasing methane production. Preliminary tests were performed in which the scum was subjected to hydrolysis for 24 hours, using different enzyme concentrations (0, 0.10, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0 and 5.0% m/v), with the monitoring of acids production. Once the most effective concentration of enzyme was identified, the scum was submitted to anaerobic biodegradation tests. The experimental conditions for the tests were based on UASB reactor operating conditions (30 °C, pH 7.0). The results of the kinetics of hydrolysis showed that the concentration of 1% (w/v) produced more acids for both commercial enzymes. Furthermore, it was found that the crude papain presented a superior performance than the lipase Lipolase 100L in the anaerobic biodegradation of the scum, as confirmed by higher methane production, with a mean value of 950 ml and 720 ml, and higher COD removal efficiencies (79 and 72%) and O&G (80 to 63%), respectively. In the second scenario, we sought to establish a scum disposal protocol in a hydrostatic removal device, in order to enable control of the accumulation of material within TPS (three-phase separators) of a UASB reactor operating at full scale. Additionally, the effectiveness of a screening system and scum dehydration with a view to reducing disposal costs and increasing the energy recovery potential of the scum was evaluated. The results showed that a frequency of two weekly discharges resulted in effective control of scum accumulation in the TPS, as confirmed by the substantial reduction in the volume of scum after the removal operation (only 10-40% of remaining material). In addition, the sieving and dehydration system of scum enabled the effective separation of the coarse fraction and a high efficiency of the drying bed with a volume reduction of about 80%, in just 60 hours of dehydration. The data also showed that the scum retained by the sieve had a greater energy potential than the dry scum retained in the drying bed, of 7.1 and 5.8 MJ.d<sup>-1</sup>, respectively. These results allow confer important benefits in terms of reducing disposal costs of the scum, as well as raising the energy recovery potential of the sewage treatment plant, in view of its favorable characteristics for use in thermal processes of energy generation.

**Keywords:** scum management, domestic sewage, enzymatic treatment, hydrostatic removal, UASB reactor

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1	ESCUMA EM REATORES UASB TRATANDO ESGOTO DOMÉSTICO .....	3
2.1.1	<i>Escuma do decantador e do separador trifásico .....</i>	3
2.1.2	<i>Problemas operacionais causados pela acumulação da escuma no interior de separadores trifásicos de reatores UASB .....</i>	6
2.1.3	<i>Fatores que contribuem para a acumulação da escuma em reatores UASB.....</i>	8
2.1.4	<i>Medidas de controle da escuma.....</i>	11
2.1.5	<i>Aspectos da biodegradabilidade da escuma .....</i>	13
2.2	UTILIZAÇÃO DE ENZIMAS NO TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS.....	14
2.2.1	<i>Enzimas.....</i>	14
2.2.2	<i>Lipases .....</i>	18
2.2.3	<i>Fatores que influenciam o processo de hidrólise de lipídeos .....</i>	19
2.2.4	<i>Tratamento de efluentes com alto teor de lipídeos utilizando lipases.....</i>	21
2.3	ANÁLISE CRÍTICA DA LITERATURA E CONTRIBUIÇÕES DO PRESENTE ESTUDO .....	28
2.3.1	<i>Investigação da aplicação de enzimas no tratamento de efluentes com alto teor de lipídeos ....</i>	28
2.3.2	<i>Investigação do uso potencial da papaína no controle da escuma.....</i>	29
2.3.3	<i>Investigação das medidas de controle da escuma .....</i>	29
<b>3</b>	<b>PREMISSAS E HIPÓTESES .....</b>	<b>31</b>
3.1	PRELIMINARES .....	31
3.2	PREMISSAS E JUSTIFICATIVAS PARA A INVESTIGAÇÃO .....	31
3.2.1	<i>Cenário 1: tratamento enzimático e biodegradação anaeróbia da escuma .....</i>	31
3.2.2	<i>Cenário 2: remoção, tratamento e valoração do subproduto escuma .....</i>	32
3.3	HIPÓTESES DE INVESTIGAÇÃO .....	32
3.4	VERIFICAÇÃO DAS HIPÓTESES .....	33
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>34</b>
4.1	OBJETIVO GERAL.....	34
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	34
<b>5</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>35</b>
5.1	ESTRUTURAÇÃO METODOLÓGICA DA TESE .....	35
5.2	CENÁRIO 1: TRATAMENTO ENZIMÁTICO NA BIODEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DA ESCUMA .....	36
5.3	CENÁRIO 2: REMOÇÃO, TRATAMENTO E VALORAÇÃO DO SUBPRODUTO ESCUMA .....	37
<b>6</b>	<b>AValiação DO EFEITO DAS ENZIMAS LIPOLASE 100L E PAPAÍNA CRUA SOBRE A BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA DA ESCUMA PROVENIENTE DE REATORES UASB TRATANDO ESGOTO DOMÉSTICO .....</b>	<b>38</b>
6.1	INTRODUÇÃO.....	38
6.2	METODOLOGIA.....	40
6.2.1	<i>Planejamento experimental .....</i>	40
6.2.2	<i>Locais de realização da parte experimental do estudo.....</i>	41
6.2.3	<i>Obtenção das enzimas .....</i>	41
6.2.4	<i>Obtenção da escuma, óleo de soja e lodo anaeróbio.....</i>	41
6.2.5	<i>Determinação da atividade lipásica das enzimas.....</i>	43
6.2.6	<i>Caracterização físico-química da escuma e lodo .....</i>	44
6.2.7	<i>Aparato experimental dos testes .....</i>	44
6.2.8	<i>Testes preliminares de hidrólise enzimática .....</i>	45
6.2.9	<i>Testes de biodegradabilidade anaeróbia .....</i>	47
6.2.10	<i>Determinação da massa e volume de escuma, lodo anaeróbio e enzima .....</i>	49
6.2.11	<i>Testes empregando a Lipolase 100 L.....</i>	51

6.2.12	Testes empregando a enzima obtida de <i>Carica papaya</i> .....	52
6.2.13	Coleta e análise de metano presente no biogás.....	54
6.2.14	Análise estatística.....	54
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
6.3.1	Caracterização físico-química da espuma e do lodo anaeróbio.....	55
6.3.2	Propriedades catalíticas das enzimas.....	55
6.3.3	Efeito da concentração da enzima sobre a produção de ácidos graxos.....	56
6.3.4	Produção de metano nos testes de biodegradabilidade anaeróbia da espuma.....	59
6.3.5	Efeito do tratamento enzimático sobre a remoção da DQO.....	68
6.3.6	Efeito do tratamento enzimático sobre a remoção de O&G.....	70
6.3.7	Avaliação do pH dos frascos-reatores.....	71
6.3.8	Análise de custos das enzimas e perspectivas de aplicação no tratamento da espuma.....	72
6.4	CONCLUSÃO.....	72
<b>7</b>	<b>ESTABELECIMENTO DE PROTOCOLO DE DESCARTE DE ESCUMA EM UM REATOR UASB EM ESCALA PLENA.....</b>	<b>74</b>
7.1	INTRODUÇÃO.....	74
7.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	75
7.2.1	Aparato experimental.....	75
7.2.2	Determinação da eficiência do dispositivo de remoção de espuma.....	77
7.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	80
7.3.1	Determinação da eficácia do dispositivo de remoção de espuma.....	80
7.3.2	Taxa de acumulação de espuma.....	83
7.4	CONCLUSÃO.....	85
<b>8</b>	<b>AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UM SISTEMA DE PENEIRAMENTO E DE DESIDRATAÇÃO DE ESCUMA COM VISTAS AO SEU APROVEITAMENTO ENERGÉTICO.....</b>	<b>86</b>
8.1	INTRODUÇÃO.....	86
8.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	87
8.2.1	Aparato experimental.....	87
8.2.2	Procedimento experimental.....	88
8.2.3	Caracterização físico-química.....	89
8.2.4	Avaliação das propriedades energéticas da espuma.....	90
8.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
8.3.1	Caracterização físico-química da espuma descartada nos STF 1 e 4.....	91
8.3.2	Caracterização físico-química da espuma separada na peneira estática e desidratada no leito de secagem.....	91
8.3.3	Eficiência do sistema de desidratação da espuma.....	93
8.3.4	Avaliação das propriedades energéticas da espuma.....	94
8.4	CONCLUSÕES.....	98
<b>9</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS DO ESTUDO.....</b>	<b>99</b>
<b>10</b>	<b>RECOMENDAÇÕES.....</b>	<b>101</b>
<b>11</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>102</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1- Regiões de acumulação de espuma em reatores UASB. (a) acumulação de espuma no decantador; (b) espuma em decantador; (c) espuma no separador trifásico .....	4
Figura 2.2– Espuma do separador trifásico com consistência diluída.....	6
Figura 2.3 – Espuma do separador trifásico com consistência grossa.....	6
Figura 2.4 - Condicionamento de lâminas para a remoção de espuma no estabelecimento da rotina operacional. (a) lâmina de 2 cm acima do coletor de espuma; (b) lâmina de 3 cm abaixo do coletor de espuma .....	13
Figura 2.5- Hidrólise de um triacilglicerol catalisada por lipases (JAEGER e REETZ, 1998). .....	18
Figura 5.1- Fluxograma ilustrativo das etapas da pesquisa com indicação de possíveis flexibilidades operacionais para o gerenciamento da espuma .....	35
Figura 5.2 – Fluxograma das etapas metodológicas dos testes realizados para o tratamento enzimático e biodegradação anaeróbia da espuma .....	36
Figura 6.1: Filme de gordura sobre a superfície aquática, formado da mistura de O&G e sólidos .....	38
Figura 6.2:a) Acúmulo da espuma dentro do separador trifásico de reatores UASB. b) Camada espessa de espuma .....	38
Figura 6.3: Fluxograma ilustrativo das etapas gerais da pesquisa .....	40
Figura 6.4: a) Abertura da escotilha do separador trifásico do reator UASB da ETE Laboreaux e b) Espuma coletada do separador trifásico do reator UASB da ETE Laboreaux.....	41
Figura 6.5: a) Moinho de panelas vibratórias R200 e b) Espuma moída no moinho de panelas .....	42
Figura 6.6: a) Reator UASB em escala de demonstração localizado no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento UFMG/COPASA (CePTS) e b) lodo anaeróbio coletado do reator UASB para utilização como inóculo nos testes de biodegradabilidade da espuma. ....	43
Figura 6.7: Incubadora utilizada nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia: a) shaker e b) frascos incubados .....	45
Figura 6.8: Enzimas empregadas nos testes de hidrólise e biodegradabilidade anaeróbia da espuma: a) Lipolase 100L e b) enzima obtida de <i>Carica papaya</i> .....	46
Figura 6.9: Montagem dos ensaios de hidrólise enzimática da espuma por 24 horas: a) frascos e b) titulador automático .....	47

Figura 6.10: Fluxograma do teste de biodegradabilidade anaeróbia.....	48
Figura 6.11: Aparatos utilizados na montagem dos frascos: a) frascos do tipo penicilina, tampa de borracha, lacre de alumínio e alicate recravador; b) vedação dos frascos.....	49
Figura 6.12: Coleta de biogás e análise de metano: a) coleta de biogás com seringa de vidro acoplada com seringa de plástico, b) injeção da amostra de biogás no cromatógrafo.....	54
Figura 6.13: Produção de ácidos livres (mol/L) na hidrólise por 24 horas a 30°C e 100 rpm de agitação, em duplicata, para diferentes concentrações de enzima: a) da espuma empregando Lipolase 100L (fixando 1g/ml); b) espuma empregando papaína crua; c) óleo de soja empregando Lipolase 100L; e d) óleo de soja empregando a papaína crua .....	58
Figura 6.14: Produção média acumulada de metano nos frascos com espuma e óleo de soja inoculados com lodo anaeróbio, para os controles e com diferentes concentrações da enzima Lipolase 100L: I) Teste I, II) Teste II e III) Teste III.....	60
Figura 6.15: Produção média acumulada de metano nos frascos com espuma e óleo de soja inoculados com lodo anaeróbio, para os controles e com diferentes concentrações da enzima papaína crua: IV) Teste IV, V) Teste V e VI) Teste VI .....	61
Figura 7.1: Vista geral das unidades da ETE <i>Laboreaux</i> .....	75
Figura 7.2: Etapas do processo da estação de tratamento de esgoto – ETE <i>Laboreaux</i> .....	75
Figura 7.3: Esquema dos sete separadores trifásicos em um reator UASB na ETE <i>Laboreaux</i> : (a) Corte transversal e; (b) Corte longitudinal .....	76
Figura 7.4: Sistema de remoção hidrostática da espuma: (a) fluxograma esquemático das linhas de gás e espuma; (b) Visão da linha de espuma e válvulas de descarte; (c) Visão da peneira estática e leito de secagem.....	77
Figura 7.5: a) a abertura da escotilha; b) isolamento da área de influência da espuma abaixo da escotilha; c) remoção da espuma na área de influência e d) peneiramento da espuma coletada para redução da fração líquida da espuma .....	79
Figura 7.6: Box plot do volume específico de espuma antes e após os descartes de remoção, para os separadores trifásicos 1 e 4 para as diferentes frequências de descarte .....	80
Figura 7.7: Box plot da eficiência de remoção da espuma para os separadores trifásicos 1 e 4 para as diferentes frequências de descartes avaliadas .....	81
Figura 7.8: Inspeção visual da camada de espuma na escotilha do STF 1: (a) antes (camada de espuma espessa) e (b) após o procedimento de descarte (redução de espuma) .....	81
Figura 7.9: Box plot dos volumes específicos (a) e de eficiências de remoção (b) de espuma para o separador trifásico 1, para a frequência de descarte de dois dias por semana.....	82

Figura 7.10: Box plot dos volumes específicos (a) e de eficiências de remoção (b) de espuma para o separador trifásico 4, para a frequência de descarte de dois dias por semana.....	82
Figura 7.11: Evolução dos volumes específicos de acumulação de espuma ( $L.m^{-2}$ ) no interior dos STF 5 e 7 observados durante a etapa 1 (4 semanas de monitoramento).....	83
Figura 7.12: Evolução dos volumes específicos de acumulação de espuma ( $L.m^{-2}$ ) no interior dos STF 5 e 7 observados durante a etapa 2 (6 semanas de monitoramento).....	83
Figura 8.1: Esquema ilustrativo do sistema de peneiramento e desidratação da espuma composto de peneira estática e leito de secagem e respectivos pontos de amostragem.....	87
Figura 8.2: Fotos do sistema de peneiramento e desidratação de espuma: a) espuma afluyente à peneira estática; b) remoção da fração grosseira retida na peneira estática com auxílio de pá; c) fita métrica afixada no leito de secagem para medição do volume.....	89
Figura 8.3: Caracterização dos sólidos na espuma: a) fração grosseira retida na peneira; b) fração desidratada no leito de secagem .....	92
Figura 8.4: Caracterização de O&G na espuma: a) espuma retida na peneira estática; b) espuma desidratada no leito de secagem .....	92
Figura 8.5: Caracterização da DQO da espuma: a) espuma afluyente ao leito de secagem; b) fração líquida percolada pelo leito de secagem .....	93
Figura 8.6: Teor de O&G da espuma passante pela peneira (afluyente ao leito de secagem)....	93
Figura 8.7: Desempenho do leito de secagem: a) distribuição do volume de espuma no leito de secagem; b) evolução do volume drenado acumulado em função do tempo.....	94
Figura 8.8: Aspecto das frações sólida e líquida da espuma: a) espuma disposta no leito de secagem; b) espuma após período de secagem de 60 h; c) líquido percolado no leito de secagem.....	94
Figura 8.9: Box plot dos resultados de composição elementar da espuma: a) espuma retida na peneira estática; b) espuma desidratada no leito de secagem .....	95
Figura 8.10: Composição imediata da espuma: a) fração grosseira retida na peneira; b) fração desidratada no leito de secagem.....	96
Figura 8.11: Variação do poder calorífico inferior da espuma em relação à umidade e comparação com outras fontes de biomassa. ....	96

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1- Fontes, origem e principais métodos de obtenção de enzimas .....	15
Tabela 2.2- Principais enzimas utilizadas no tratamento de efluentes industriais .....	17
Tabela 3.1- Resumo das hipóteses, dos parâmetros de verificação e dos resultados esperados .....	33
Tabela 6.1: Resumo dos parâmetros de análises envolvidas nos ensaios experimentais em laboratório .....	40
Tabela 6.2: Resumo dos testes de biodegradabilidade anaeróbia e das condições avaliadas ...	50
Tabela 6.3: Identificação dos frascos e volume de enzima para a montagem do ensaio de biodegradabilidade anaeróbia para os testes empregando a Lipolase 100L (fixando 1g de enzima por mL de mistura contendo espuma e lodo anaeróbio).....	50
Tabela 6.4: Identificação dos frascos e volume de enzima para a montagem do ensaio de biodegradabilidade anaeróbia para os testes empregando solução com papaína obtida de <i>Carica papaya</i> (fixando 1% da solução para o volume útil do frasco reator de 77mL) .....	51
Tabela 6.5: Massas e volumes utilizados na montagem dos frascos do teste I.....	51
Tabela 6.6: Massas e volumes utilizados na montagem dos frascos do teste II .....	52
Tabela 6.7: Massas e volumes utilizados na montagem dos frascos do testes III.....	52
Tabela 6.8: Massas e volumes utilizados na montagem dos frascos do teste IV .....	53
Tabela 6.9: Massas e volumes utilizados na montagem dos frascos do teste V .....	53
Tabela 6.10: Massas e volumes utilizados na montagem dos frascos do teste VI.....	53
Tabela 6.11: Caracterização físico-química (pH e série sólidos) da espuma e do lodo anaeróbio (inóculo) utilizados nos testes de biodegradabilidade anaeróbia da espuma.....	55
Tabela 6.12: Resumo dos resultados de produção acumulada média de metano no conjunto de testes realizados.....	66
Tabela 6.13: Valores médios, desvios padrão e eficiências de remoção da DQO da espuma com e sem a aplicação do tratamento enzimático no início e final dos testes de biodegradabilidade anaeróbia .....	68
Tabela 6.14: Valores médios, desvios padrão e eficiências de remoção de O&G da espuma com e sem a aplicação do tratamento enzimático no início e final dos testes de biodegradabilidade anaeróbia .....	70
Tabela 6.15: pH médio observado no início e no final dos testes de biodegradabilidade anaeróbia da espuma.....	71



Tabela 7.1: Frequência de descarte da espuma e condições operacionais de um reator UASB operando em escala real, comparando dois separadores trifásicos (STF 1 e 4).....	78
Tabela 7.2: Remoção da espuma e condições operacionais de um reator UASB operando em escala real, comparando dois separadores trifásicos (STF 5 e 7).....	84
Tabela 8.1: Características do sistema de separação e desidratação da espuma.....	88
Tabela 8.2: Pontos de amostragem e respectivos parâmetros monitorados.....	89
Tabela 8.3: Estatística descritiva da espuma antes do descarte para a vazão afluyente ao reator UASB e as concentrações de DQO, O&G, ST e STV .....	91

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

AG – Ácido livre

AGL – Ácido graxo livre

AGV – Ácidos graxos voláteis

AGCL – Ácido graxo de cadeia longa

AME – Atividade metanogênica específica

CE – Composição elementar

CePTS – Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento

CETEC – Centro Tecnológico de Minas Gerais

CI – Composição imediata

COPASA – Companhia de Saneamento de Minas Gerais

DBO – Demanda bioquímica de oxigênio

DESA – Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental

DQO – Demanda química de oxigênio

DTR – Distribuição do tempo de residência hidráulica

EP – Equivalente populacional

ETE – Estação de Tratamento de Esgotos

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético (quelantes)

EGSB – *Expanded granular sludge bed* (reator de leito granular expandido)

FBP – filtro biológico percolador

FES – fermentação em estado sólido

FSM – fermentação submersa

MSTV – Massa de sólidos totais voláteis

NBR – Norma brasileira

O&G – Óleos e graxas

PCI – poder calorífico inferior

PCS – poder calorífico superior

PES – Preparado enzimático em meio sólido

STV – Sólidos totais voláteis

SF – Sólidos fixos totais

STF - Separador trifásico

TAG – Triacilglicerídeos

TCD - *Thermal conductivity detector*

TDH – Tempo de detenção hidráulica

UASB – *Upflow anaerobic sludge blanket* (reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo)

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

# 1 INTRODUÇÃO

Entre as tecnologias empregadas no tratamento das águas residuárias, especialmente no tratamento do esgoto doméstico, o reator anaeróbio de manta de lodo tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) é amplamente utilizado no Brasil e diversos países de clima tropical, a exemplo de Colômbia, Índia, e, mais recentemente, em países do Oriente Médio e África. As condições climáticas desses países permitem um bom desempenho desse reator, sem a necessidade de aquecimento, mesmo durante o inverno (VON SPERLING E CHERNICHARO, 2005).

Apesar dos reatores UASB serem considerados uma tecnologia praticamente consolidada no Brasil, ainda são observados deficiências operacionais que necessitam ser equacionadas. A operação desses reatores tem sido dificultada e até mesmo interrompida, em ocasiões eventuais, pela formação e acumulação de espuma no interior dos separadores trifásicos, local de difícil remoção, por se tratar de uma subunidade fechada (VAN LIER *et al.*, 2011). O acúmulo e a não remoção periódica da espuma gera problemas operacionais no reator, especialmente o bloqueio da passagem natural do gás, prejudicando sua coleta (LETTINGA e HULSHOFF POL, 1991). Pode ainda ocasionar a diminuição da eficiência do tratamento, devido à perda de partículas de espuma juntamente com o efluente final (SATO *et al.*, 2006).

A espuma corresponde a um subproduto gerado durante o processo de tratamento de águas residuárias e que se acumula sobre a superfície dos tanques de forma geral. Em esgotos domésticos, a espuma apresenta-se como uma camada de materiais flutuantes de baixa densidade (SOUZA, 2006) em que os lipídeos representam a fração orgânica mais difícil de hidrolisar, em função da baixa degradabilidade, além de apresentar uma grande heterogeneidade (VIDAL *et al.*, 2000). Parte da carga orgânica presente nas águas residuárias pode ser removida por tratamento primário, em que as operações unitárias envolvidas possibilitam a remoção físico-química da matéria orgânica, como, por exemplo, por meio de caixas de gordura e/ou flotores. Porém, estas unidades removem apenas a fração de sólidos livres (partículas grandes que flutam rapidamente à superfície). As frações de óleos e graxas que permanecem na forma de emulsão ou em dispersão mecânica (partículas pequenas de difícil flotação) são carregadas para as etapas subjacentes ao sistema de tratamento (ZAWADZKI, 2011).

No Brasil, o cenário atual referente ao controle da espuma em estações de tratamento de esgotos tem sido a remoção periódica por meio de mangote de sucção acoplado ao caminhão limpa-fossa e disposição final em aterros sanitários. Entretanto, este procedimento é trabalhoso, em que a mão de obra é submetida a condições insalubres, em função da permanência em ambiente com elevada concentração de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) por um longo período de tempo, até a completa limpeza do reator (RAMOS *et al.*, 2010). Ao mesmo tempo, deve-se considerar a contribuição para a redução da vida útil dos aterros em operação.

Embora a espuma seja considerada um fator limitante para a eficiência operacional dos reatores UASB, poucas pesquisas visaram à solução do problema. Os avanços na pesquisa voltados para o controle da espuma concentram-se apenas na melhoria do sistema de remoção e em alterações de projeto, com o intuito de propiciar mecanismos de remoção ou mistura hidráulica, visando à quebra das partículas para favorecer a biodegradação da espuma. Todavia, os resultados apresentados ainda não foram satisfatórios.

Uma concepção modificada do reator UASB aplicado no tratamento de esgoto doméstico, dotado de dois estágios de coleta de biogás, foi investigada recentemente em uma tese de doutorado na Universidade Federal de Minas Gerais. Os resultados dessa pesquisa revelaram-se promissores para a redução na formação da espuma, porém, não foi observada a biodegradação anaeróbia desta (PEREIRA, 2012).

Dispositivos hidrostáticos de descarte projetados nos reatores visando o controle da espuma apresentaram resultados promissores para a remoção (ROSA *et al.*, 2012). Contudo, ainda não se encontra estabelecido um protocolo de rotina apropriada de descarte da espuma que possa assegurar a operação plena desses sistemas em estações de tratamento de esgotos. Além disso, torna-se necessário uma destinação final adequada para este resíduo.

Diante da dificuldade de solucionar os problemas gerados pela espuma, dos custos de transporte e disposição, a presente tese propôs uma investigação de dois cenários de gerenciamento da espuma, conforme apresentado a seguir.

No primeiro cenário, procurou-se avaliar o tratamento enzimático da espuma. Atualmente, esse processo vem se configurando como uma alternativa bem sucedida em escala laboratorial, no tratamento de efluentes industriais com alto teor de lipídeos (CAMMAROTA *et al.*, 2001; MASSE *et al.*, 2003; LEAL *et al.*, 2006; JEGANATHAN *et al.*, 2007; VALENTE *et al.*, 2010). Deste modo, a biodegradação anaeróbia da espuma proveniente de reator UASB tratando esgoto doméstico é uma oportunidade nova e promissora para essas enzimas.

No segundo cenário, buscou-se o aprofundamento do conhecimento e eficiência da remoção hidrostática da espuma dos separadores trifásicos (STF), após os estudos conduzidos por Rosa *et al.*, 2012, através da adoção de uma rotina adequada de descarte da espuma. O passo seguinte da pesquisa também contempla a avaliação de um sistema de separação e desidratação da espuma como alternativa de destinação final, bem como a avaliação do uso potencial do resíduo como fonte energética.

Neste contexto, a presente tese busca contribuir com o estudo de propostas de gerenciamento da espuma proveniente de reatores UASB.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Escuma em reatores UASB tratando esgoto doméstico

Apesar da ampla utilização dos reatores UASB no tratamento de esgoto doméstico e desta tecnologia ser considerada praticamente consolidada em função das inúmeras vantagens apresentadas, são verificadas deficiências que necessitam ser aprimoradas. Diversos autores como Hu *et al.* (2002); Mendes *et al.* (2005) e Sato *et al.* (2006) destacaram que a grande variação nas características físico-química e na carga orgânica do esgoto, sobretudo a alta concentração de lipídeos de baixa degradabilidade, tem contribuído para a formação e acúmulo de um subproduto denominado espuma nos compartimentos internos do reator UASB, sendo responsável por inúmeros problemas operacionais e perda de eficiência nestes reatores.

A espuma corresponde à formação e acumulação de uma camada heterogênea de materiais flutuantes, por apresentarem baixa densidade, que se origina de particulados provenientes do fluxo afluyente de esgoto e é gerada no processo de tratamento anaeróbico de águas residuárias. No caso particular de reatores UASB tratando esgoto doméstico, o acúmulo de espuma pode ser intensificado por fluxos ascensionais de líquido ou gás (SOUZA, 2006). Nessa matriz residual podem estar presentes óleos, graxas, sabões, restos de alimentos, cascas de frutas e vegetais, fios de cabelo, papel, algodão, pontas de cigarros, plásticos e outros materiais, que apresentam densidade menor que 1,0 (METCALFY e EDDY, 2003).

Vários estudos também têm reportado a ocorrência da espuma em diversas unidades de tratamento de efluentes como decantadores primários, lagoas de estabilização, fossas-sépticas, decantadores secundários, digestores de lodo, reatores anaeróbios, entre outros (METCALFY e EDDY, 2003; VON SPERLING, 1997).

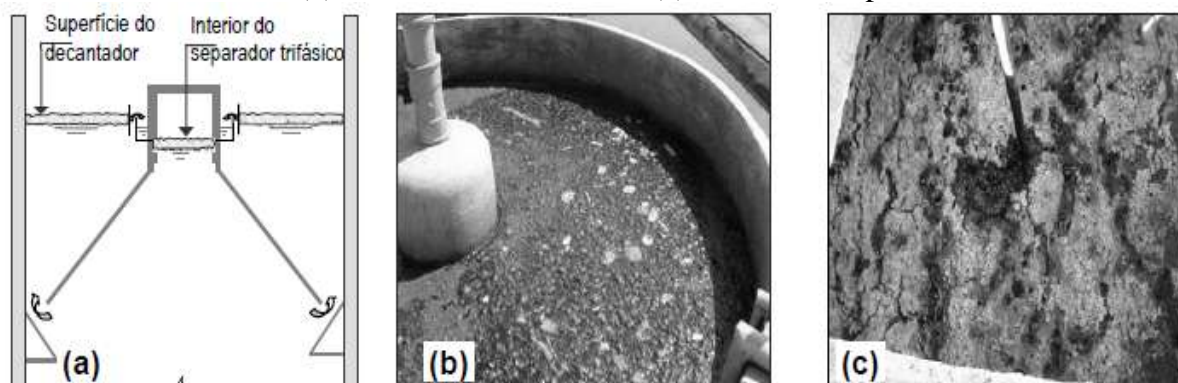
Nos reatores UASB, a ocorrência de problemas relacionados à espuma tem sido relatada tanto em efluentes industriais (VIDAL *et al.*, 2000; LAUBSCHER *et al.*, 2001; VALLADÃO *et al.*, 2011) como em esgotos domésticos (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994; SATO *et al.*, 2006; SOUZA, 2006; PEREIRA, 2012). Atualmente, diante dos problemas operacionais causados pela espuma em reatores UASB, e esta tem sido foco de recentes pesquisas, especialmente no Brasil (HALALSHEH *et al.*, 2005, VERSIANE, 2005; SATO *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2006; PEREIRA, 2007; RAMOS, 2008). No entanto, poucos estudos foram voltados para a solução do problema (PEREIRA, 2012).

#### 2.1.1 Escuma do decantador e do separador trifásico

A formação e acumulação da espuma em reatores UASB pode ocorrer na superfície dos compartimentos internos. Na superfície do decantador (responsável pela separação da fase

sólido e líquido) e no interior do separador trifásico (interface de liberação dos gases formados durante a digestão), conforme pode ser ilustrado na Figura 2.1.

**Figura 2.1-** Regiões de acumulação de espuma em reatores UASB. (a) acumulação de espuma no decantador; (b) espuma em decantador; (c) espuma no separador trifásico



**Fonte:** Chernicharo, 2007.

Estudos envolvendo a avaliação de estações de tratamento com reatores UASB, na Índia, revelaram que o desempenho das estações foi comprometido por falta de frequência adequada de descarte de lodo e de espuma. Este evento mostrou a necessidade de treinamento e experiência dos operadores em avaliar o desempenho do tratamento e definir os intervalos de descarte (SATO *et al.*, 2006).

Laubscher *et al.* (2001) relataram uma deficiência operacional do reator UASB, aplicado no tratamento de efluentes de uma destilaria, ocasionada pela formação e acumulação de uma camada de espuma, em que foi necessário o desligamento forçado do reator para sua remoção. A partir desse relato, os autores propuseram um estudo comparativo entre o efluente de destilação de grãos e o efluente da fermentação de vinho em reatores UASB, em escala laboratorial, a partir de um pré-tratamento de remoção de sólidos, em que a formação de espuma foi avaliada apenas visualmente. Os resultados mostraram que o efluente gerado no tratamento durante a fermentação do vinho não apresentou produção de espuma. No entanto, verificaram uma produção contínua de espuma no decantador do reator UASB tratando o efluente da destilação que demandou sua remoção diária. Sendo assim, os autores constataram que a pré-remoção de sólidos do efluente complexo reduz a formação de espuma, mas não a elimina.

Por outro lado, a espuma acumulada na superfície do decantador pode ter um importante papel no controle de odores gerados. Especificamente, esta espuma apresenta uma coloração, esverdeada ou marrom, em que há presença de micro-organismos que oxidam o sulfeto (corrosivo, tóxico e odor desagradável) a enxofre elementar. O enxofre é caracterizado por uma camada branca superficial de cerca de 1-3 mm que cobre a espuma. Desta forma, a formação de espuma poderia ser benéfica aos reatores construídos com compartimento de

decantação exposto à atmosfera, sem maiores problemas de geração de maus odores (SOUZA, 2006; GARCIA, 2009).

A produção de espuma na superfície do decantador do reator UASB tende a ser relativamente pequena e está intimamente relacionada com o projeto, caso este possua um dispositivo de saída do efluente - tubulação submersa perfurada ou calhas vertedoras equipadas com retentores de espuma (VAN HAANDEL & LETTINGA, 1994). Assim, os materiais leves que sobem juntamente com o esgoto tratado podem ficar retidos no dispositivo, contribuindo para a formação da espuma (SOUZA, 2006). Caso contrário, se a coleta do efluente for livre ou o reator não possuir retentores, a espuma poderá verter pela calha de coleta (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

Quanto à formação de espuma no interior do separador trifásico, objeto de estudo do presente trabalho, esta apresenta coloração negra e é comumente relatada como mais problemática, devido à maior dificuldade de remoção (VAN LIER *et al.*, 2011), por se tratar de uma subunidade fechada à saída de líquido, em que naturalmente há a probabilidade da camada de espuma se formar e acumular quando os sólidos atingirem a superfície líquida (SOUZA, 2006). Acrescenta-se ainda que podem ser observadas taxas mais elevadas de acumulação de espuma, seja diluída ou concentrada (CHERNICHARO, 2007), dependendo das suas características físicas como viscosidade, massa específica e consistência (PEREIRA, 2012).

Investigações detalhadas mostraram que a acumulação de camada espessa de espuma pode ocorrer quando sua formação é maior que sua decomposição (SOUZA, 2006). Pode-se ressaltar ainda que a espessura depende fundamentalmente da composição do substrato, do conteúdo de sólidos suspensos e de óleos e graxas. Nesse sentido, uma elevada carga de sólidos pode resultar em baixos tempos de retenção, causando a acumulação de substâncias flutuantes (LAUBSCHER *et al.*, 2001; MAHMOUD *et al.*, 2003). Peña *et al.* (2006) consideraram a região interna do separador trifásico como uma zona de estagnação do reator, particularmente em condições de aplicação de baixa carga hidráulica (baixa velocidade ascensional) e baixa produção de biogás, facilitando a acumulação e a agregação da camada de espuma.

De acordo com a bibliografia pesquisada, o problema da espuma pode ser mais agravante no separador trifásico, uma vez que esta acaba endurecendo e aprisionando o gás, através do desenvolvimento de um selo. A contínua produção de gás, acumulado abaixo da camada de espuma, não é detectada na linha de saída de gás da campânula, e a pressão debaixo da camada de espuma aumenta, a ponto de romper abruptamente este selo, provocando uma movimentação das placas endurecidas e a torção das campânulas (MIKI, 2010). O autor relata a ocorrência deste tipo de acidente nas ETE Lajeado (Botucatu/SP) e Piracicamirim (Piracicaba/SP).

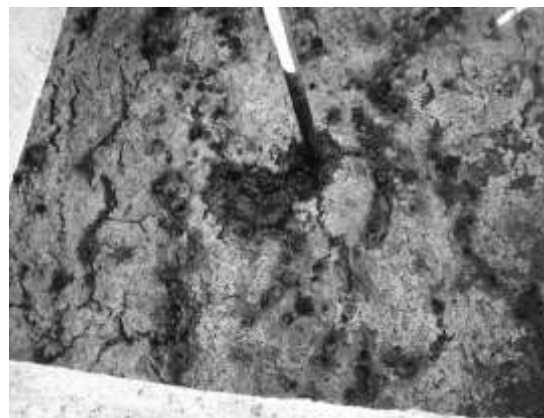


A quantidade de espuma formada no interior dos separadores trifásicos de reatores UASB tratando esgotos domésticos tende a ser relativamente pequena, facultando sua remoção em intervalos de tempo próximos de 15 a 30 dias. Esta espuma normalmente apresenta características fluidas (Figura 2.2), possibilitando a sua remoção hidrostática. Todavia, no caso da operação com remoção pouco frequente desse material, pode ocorrer a formação de espuma mais concentrada e mais solidificada (Figura 2.3), com elevado teor de sólidos (CHERNICHARO *et al.*, 2009).

**Figura 2.2**– Escuma do separador trifásico com consistência diluída



**Figura 2.3** – Escuma do separador trifásico com consistência grossa.



**Fonte:** Chernicharo *et al.* (2009).

Dessa forma, o acúmulo de espuma pode trazer sérias consequências ao tratamento de esgoto doméstico, sendo, portanto, mais uma demanda operacional dos reatores UASB que deve ser combinada com o descarte do lodo excedente. Destaca-se ainda que o separador trifásico pode ser considerado o ponto principal para o controle da espuma por apresentar-se como o ponto de acúmulo mais problemático.

## **2.1.2 Problemas operacionais causados pela acumulação da espuma no interior de separadores trifásicos de reatores UASB**

### **2.1.2.1 Inibição de micro-organismos**

Os estudos realizados por Petruy e Lettinga (1997) e Hwu *et al.* (1998) relataram que concentrações milimolares de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) formados na etapa de hidrólise de lipídeos presentes no efluente são suficientes para inibir o crescimento das arqueias metanogênicas. Por outro lado, estudos expuseram que uma elevada concentração de AGCL, pode ter um efeito irreversível inibitório para as bactérias acetogênicas (HANAKI *et al.*, 1981) e para as arqueias metanogênicas, consideradas mais vulneráveis (RINZEMA *et al.*, 1994; HWU *et al.*, 1998; MASSE *et al.*, 2001; HU *et al.*, 2002). Porém, mais recentemente Pereira *et al.* (2004; 2005) reportaram que a inibição é um processo reversível mais provável de ser relacionado com as limitações físicas de transporte do que com as funções metabólicas.

A inibição de micro-organismos em sistemas anaeróbios incide em função do efeito recalcitrante dos lipídeos em que ocorre a adsorção na superfície ativa destes compostos na membrana celular dos micro-organismos, afetando as funções de transporte e de proteção, ou seja, dificultando a difusão de substratos solúveis para o interior da célula (GALBRAITH e MILLER, 1973 *Apud* ALVES *et al.*, 2001). Adicionalmente, Mendes *et al.* (2006) destacaram que ácidos graxos saturados com 12 a 14 átomos de carbono e ácidos graxos insaturados com 18 átomos de carbono apresentam elevado potencial de inibição. Assim, pode-se dizer que a inibição da atividade metanogênica pelos ácidos graxos depende do comprimento da cadeia carbônica e pelo grau de saturações desta cadeia.

#### 2.1.2.2 Redução da produção de metano

As dificuldades operacionais de remoção da espuma no separador trifásico do reator UASB podem levar à sua acumulação e causar uma menor conversão em metano.

Perle *et al.* (1995) avaliaram o efeito dos lipídeos de efluentes de laticínios na produção de metano e constataram que a redução da atividade metanogênica é bastante acentuada para efluentes contendo 100 mg.L<sup>-1</sup>. Para efluentes contendo valores acima de 500 mg.L<sup>-1</sup>, a produção de metano foi nula.

Altas concentrações de óleos e graxas podem inativar a ação dos micro-organismos, sendo imprescindível a hidrólise dos lipídeos em moléculas de massa molar menor para obtenção de um tratamento eficiente (MASSE *et al.*, 2001).

#### 2.1.2.3 Impedimento de saída do biogás

Além da baixa eficiência de conversão de biogás, a formação da camada de espuma no separador trifásico do reator UASB pode impedir a liberação deste, fazendo com que o mesmo se acumule sob a camada, chegando até a zona de decantação (PAGLIUSO *et al.*, 2002; SOUZA, 2006).

Essa realidade foi relatada nos trabalhos de Hwu *et al.* (1998) e Santos *et al.* (2003), enfatizando inclusive a necessidade de remoção diária da espuma acumulada para evitar os bloqueios no coletor do biogás. Contudo, o efeito mais notável foi o relatado por Pagliuso *et al.* (2002). Segundo esses autores, as camadas de espuma formadas no separador trifásico em um reator UASB em escala real causaram o bloqueio total da passagem do biogás.

#### 2.1.2.4 Flotação do lodo

A presença de lipídeos presentes na camada de espuma pode causar o desenvolvimento de lodo com diferentes características físicas ou fraca atividade microbiana, podendo resultar na flotação do lodo (PERLE *et al.*, 1995), arraste de biomassa ou lentidão no processo devido à dificuldade de transporte de substratos solúveis para a biomassa, devido à gordura aderida no lodo (RINZEMA *et al.*, 1993; HWU *et al.*, 1998; VIDAL *et al.*, 2000; HU *et al.*, 2002).

Conseqüentemente, reduz a taxa de conversão de substratos (VALLADÃO *et al.*, 2007), prejudica a qualidade do efluente e aumenta a formação de espuma (LETTINGA e HULSHOFF POL, 1991; AIYUK *et al.*, 2006).

#### 2.1.2.5 Danos estruturais nos separadores trifásicos

O acúmulo de uma camada espessa de espuma no separador trifásico impede a liberação do biogás da fase líquida, podendo levar à ruptura desta estrutura e causar pane no sistema (RAMOS, 2008; MIKI, 2010; VAN LIER *et al.*, 2011).

Miki (2010) explica que a ruptura do separador trifásico depende do tipo de material empregado nas campânulas e ocorre em função da contínua produção de gás que pode se acumular abaixo da espuma, aumentando a pressão sob a camada. Esta pressão de gás sob a espuma (e as abas do separador) pode chegar a romper abruptamente a camada espessa de espuma, provocando uma movimentação das placas enrijecidas e a torção das campânulas (devido ao alívio de pressão sob o separador com a saída do gás). A ocorrência deste tipo de acidente foi relatada em estações de tratamento de esgoto do estado de São Paulo, onde os separadores foram construídos em fibra de vidro.

Estudos realizados por Leal *et al.* (2006), Cammarota *et al.* (2001) e Hu *et al.* (2002) relataram a ocorrência da perda de eficiência e colapso de reatores UASB empregados no tratamento de efluentes industriais com alto teor de lipídeos, em função do acúmulo de espuma.

Finalizando, destacam-se ainda os custos adicionais com o gerenciamento da espuma que envolvem a mão de obra empregada no descarte e na disposição da mesma, além dos equipamentos utilizados para remoção da espuma (RAMOS, 2008; CHERNICHARO *et al.*, 2009; MIKI, 2010).

### **2.1.3 Fatores que contribuem para a acumulação da espuma em reatores UASB**

A acumulação de espuma em reatores UASB pode estar associada a diversos fatores, como a presença de materiais flutuantes, a elevada concentração de lipídeos, temperatura e idade do lodo, condições hidrodinâmicas do reator e inadequado projeto da etapa de pré-tratamento (PAGILLA *et al.*, 1997; YODA e NISHIMURA, 1997; HALALSHEH *et al.*, 2005; SOUZA, 2006, CHERNICHARO, 2007; CHERNICHARO *et al.*, 2009, PEREIRA, 2012).

#### 2.1.3.1 Sólidos afluentes

O esgoto doméstico é considerado uma água residuária complexa, por apresentar parcela importante de matéria orgânica na forma insolúvel (sólidos particulados), mesmo sendo pouco concentrado. Assim, a composição do esgoto doméstico apresenta uma grande fração de sólidos suspensos, de lenta degradabilidade, que se divide em três grandes grupos: lipídeos, proteínas e carboidratos (BATSTONE *et al.*, 2000; ZEEMAN e SANDERS, 2001). A baixa

degradabilidade e densidade desses sólidos, aliada aos demais fatores que influenciam a acumulação da espuma (descritos em sequência), favorecem o processo de formação da espuma, em função da baixa taxa de hidrólise destes. Lettinga e Hulshoff Pol (1991) acrescentam que, além da matéria orgânica insolúvel, as águas residuárias podem apresentar compostos inorgânicos e compostos em concentrações inibidoras ou tóxicas, que podem formar precipitados.

#### 2.1.3.2 Impacto do teor de lipídeos

Os lipídeos são constituintes importantes da matéria orgânica dos efluentes. Na fração de matéria orgânica insolúvel afluente aos reatores, os lipídeos representam cerca de 30% da composição da espuma e são considerados os mais problemáticos, sendo os principais causadores de ocorrências graves, no que tange a formação e acumulação de espuma em reatores UASB, devido o seu baixo peso específico e baixa solubilidade (ZEEMAN e SANDERS, 2001; JORDÃO e PESSÔA, 2005).

A fração de lipídeos engloba substâncias de origem animal e vegetal, constituídas por óleos e gorduras, identificados como óleos e graxas (O&G) nas análises. As principais fontes de lipídeos em esgotos domésticos são decorrentes do consumo de alimentos como manteiga, banha, gordura, óleos vegetais, principalmente o óleo de soja, oriundos de efluentes de cozinhas em geral. Esses glicerídeos são classificados em óleos – quando se apresentam líquidos, e gorduras – quando se apresentam sólidos, ambos em condições ambientais. Segundo Vidal *et al.* (2000), a baixa solubilidade dos lipídeos em água faz com que a gordura se solidifique sobre a superfície líquida, retendo os sólidos flutuantes (ZAWADZKI, 2011), e formando a camada de espuma (JORDÃO e PESSOA, 2005). Do ponto de vista químico, verifica-se que os óleos são formados principalmente por ésteres de ácidos insaturados (ligações carbono-carbono com duplas ou triplas ligações), enquanto que as gorduras são formadas por ésteres de ácidos saturados (ligações carbono-carbono com apenas ligações simples). Os lipídeos apresentam-se principalmente na forma de triacilgliceróis e AGCL (CHIPASA e MEDRZYCKA, 2006).

As concentrações de O&G em esgoto bruto variam entre 40 e 170 mg.L<sup>-1</sup> (METCALF e EDDY, 2003; VON SPERLING, 1997). O estudo realizado por Chipasa e Medrzycka (2006) revelou que uma parcela substancial, de 30 a 40% da DQO total do esgoto doméstico, constitui-se de lipídeos e cerca de 50% da DQO total afluente apresenta-se na forma insolúvel.

#### 2.1.3.3 Temperatura e idade do lodo

A temperatura influencia diretamente a viscosidade e a velocidade das reações de degradação dos compostos orgânicos. Assim, o problema surge quando há condições de temperaturas amenas, que provocam o aumento da viscosidade e a redução da taxa de hidrólise. O aumento da viscosidade interfere na eficiência de mistura, que em maior parte é promovida pela

passagem do biogás. Com relação à redução da taxa de hidrólise, esta resulta no maior acúmulo de sólidos, contribuindo para o aumento na espessura da camada de espuma (HALALSHEH *et al.*, 2005, PEREIRA, 2012).

A formação da espuma também está diretamente relacionada com a elevação da idade do lodo, que pode levar à flotação do lodo (HALALSHEH *et al.*, 2005). Yoda e Nishimura (1997) e Pereboon (1994) complementaram que maiores idades do lodo podem levar à flotação da biomassa floculenta e granular, através das bolhas de gás que podem ficar retidas nas partículas de lodo.

#### 2.1.3.4 Condições hidrodinâmicas

Segundo Pereira (2012), as condições hidrodinâmicas observadas em reatores UASB aplicados ao tratamento de esgoto doméstico resultam em baixas velocidades ascensionais, elevados tempos de detenção hidráulica (TDH), baixas cargas orgânicas volumétricas, além da baixa relação altura: diâmetro, quando comparados aos reatores UASB aplicados no tratamento de efluentes industriais.

Especificamente em relação à velocidade ascensional, esta representa uma importante função no nível de mistura e contato entre biomassa e substratos (esgoto), podendo proporcionar uma melhor biodegradação dos compostos orgânicos. Todavia, elevadas velocidades ascensionais provocam o aumento da força de cisalhamento entre as partículas e podem acarretar o arraste dos sólidos até a superfície e um efeito contrário na eficiência de remoção destes, intensificando o acúmulo de espuma (MAHMOUD *et al.*, 2003; HWU *et al.*, 1998).

Também, as baixas velocidades ascensionais podem favorecer o acúmulo de sólidos nas superfícies líquidas do decantador e separador, contribuindo para a formação e acúmulo de espuma (MAHAMOUD *et al.*, 2004; SOUZA, 2006; PEREIRA, 2012).

#### 2.1.3.5 Tratamento preliminar

Diferentes métodos são empregados para remover sólidos diversos presentes tanto em esgotos domésticos quanto em efluentes industriais. Unidades que se baseiam em métodos físicos de remoção, empregados a montante de estações de tratamento biológico e em redes receptoras de esgotos, tais como caixas de gordura ou separadores de água e óleo, não retém óleos e graxas emulsificados ou dissolvidos (MASSE *et al.*, 2001). Porém, estas unidades removem a fração de partículas grandes que flutam rapidamente à superfície. As frações que permanecem na forma solubilizada ou em dispersão mecânica (partículas pequenas) são carregadas para as etapas subsequentes do tratamento (ZAWADZKI, 2011). Essas partículas, quando entram nos sistemas, são responsáveis por boa parte dos entupimentos verificados nas tubulações de distribuição dos esgotos, que uma vez dentro do reator, passam a incorporar a massa de lodo ou de espuma, ou são eventualmente liberados com o efluente (CHERNICHARO *et al.*, 2009). Esses autores relatam ainda que as grades da etapa de pré-tratamento usualmente

apresentam elevado espaçamento entre barras, possibilitando a passagem de constituintes não degradáveis, como cotonetes, pontas de cigarro, plásticos, trapos, entre outros, que passam a fazer parte do lodo ou da espuma no interior do reator.

Conforme ressaltado por Chernicharo *et al.* (2009) e Miki (2010), boa parcela desses sólidos poderia deixar de compor a camada de espuma, se o projeto das grades da etapa de pré-tratamento fosse capaz de reter estes materiais, como é o caso da utilização de peneiras de abertura de 5 mm e 6 mm à jusante das grades.

Dessa forma, uma concepção de unidade de peneiramento forçado foi avaliada, utilizada no pré-tratamento do esgoto bruto, na tentativa de reduzir o tamanho das partículas de sólidos (TEXEIRA, 2009). A unidade de peneiramento forçado (UPF) era constituída de uma peneira metálica (abertura de malha de 1 mm) inserida na tubulação de recalque através da qual o esgoto afluente era bombeado. Os resultados mostraram uma maior concentração de partículas com diâmetro entre 1,8 e 30  $\mu\text{m}$ , sem que houvesse retenção de material particulado. Todavia, a redução nesta faixa de tamanho das partículas não foi suficiente para aumentar as taxas de hidrólise do material particulado. Por outro lado, o peneiramento forçado proporcionou o desenvolvimento de uma biomassa com maior atividade que propiciou um melhor desempenho do reator UASB, aumentando a eficiência de remoção de  $\text{DQO}_{\text{TOTAL}}$  (65%, para o reator precedido da unidade de peneiramento forçado, *versus* 54%, para o reator controle), além de gerar um efluente com menor concentração de  $\text{DQO}_{\text{PARTICULADA}}$  (48  $\text{mg.L}^{-1}$  *versus* 74  $\text{mg.L}^{-1}$ ).

#### **2.1.4 Medidas de controle da espuma**

Os avanços para as alternativas de controle da espuma que se acumula no interior dos separadores trifásicos concentram-se apenas na melhoria do sistema de remoção e em alterações nos projetos na tentativa de criar mecanismos de agitação da espuma como forma de quebrar ou fluidificar a camada, porém os resultados ainda não foram satisfatórios (VAN LIER *et al.*, 2011; PEREIRA, 2012). Entre as alternativas de projeto relacionam-se as calhas de coleta de espuma no separador (CHERNICHARO, 2007); portas de remoção da espuma, dispostas ao longo do separador (VAN LIER *et al.*, 2011); jatos de água ou sprinklers (LETTINGA e HULSHOFF POL, 1991); a injeção de biogás sob a camada de espuma (LETTINGA e HULSHOFF POL, 1991; SCHELLINKHOUT e COLLAZOS, 1992) e duplo estágio de coleta de biogás (PEREIRA, 2012).

Nos casos em que a espuma do separador se apresentar em grande volume, mais solidificada e com elevado teor de sólidos, recomenda-se que a remoção seja realizada por um mangote de sucção acoplado a um caminhão limpa-fossa (CHERNICHARO, 2007).

O desenvolvimento de um reator UASB composto de duplo estágio de coleta de biogás (uma coifa posicionada a 1m do fundo do reator, acoplada a um tubo, que conduzia o biogás produzido no leito de lodo até a camada de espuma), foi avaliado em tese de doutorado

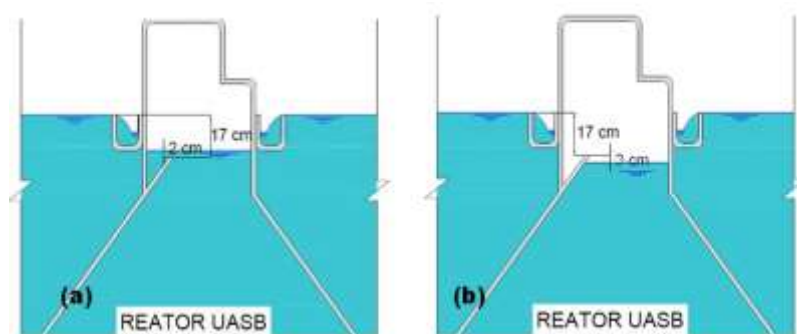
desenvolvida por Pereira (2012). A intenção das alterações promovidas no reator era solucionar o problema operacional de formação de espuma no interior do separador trifásico, por meio de mecanismos que permitissem a saída de toda espuma, ou sua degradação no próprio volume do reator, através do contato da espuma com os micro-organismos presentes no lodo anaeróbio. O primeiro estágio de coleta de biogás visava concentrar e direcionar o fluxo das três fases a fim de propiciar melhores condições de mistura hidráulica no interior do coletor de segundo estágio, favorecendo a ocorrência dos mecanismos de degradação e/ou transporte hidráulico da espuma. O segundo estágio de coleta de biogás assemelhava-se a um separador trifásico convencional, porém possuindo orifícios de saída da espuma. O tubo do primeiro coletor de biogás, de menor dimensão (60 mm), era responsável por transferir o fluxo de gás até a camada de espuma. O tubo do segundo coletor, de maior dimensão (100 mm), dotado de 3 orifícios (50x100 mm), tinha a finalidade de permitir a saída física da espuma do separador trifásico para a zona de decantação, após a agitação promovida pela passagem do fluxo. Os resultados mostraram-se satisfatórios para a redução da espuma acumulada no separador trifásico, contudo, tal modificação não promoveu a degradação da espuma.

#### 2.1.4.1 Remoção hidrostática de espuma

O sistema hidrostático de remoção de espuma baseia-se na alteração do nível d'água no interior do separador trifásico, de modo a possibilitar que a espuma verta para uma canaleta, interna ao separador trifásico (STF), e seja encaminhada para a linha de drenagem, externa ao reator. A alteração do nível d'água no interior do separador é conseguida pelo aumento ou pela diminuição da pressão na linha de gás compreendida entre o separador e um selo hídrico localizado no topo de cada reator. Dessa forma, o nível d'água no interior do selo hídrico possibilita definir o nível da lâmina de espuma no interior do separador trifásico (ROSA *et al.*, 2012). No entanto, é importante salientar que esse sistema de controle de espuma depende da correta periodicidade de remoção, a fim de garantir que a espuma apresente-se com maior fluidez, podendo ser mais facilmente descartada (CHERNICHARO, 2007).

Rosa *et al.* (2012) avaliaram o sistema hidrostático de remoção de espuma de quatro dos sete STF de um dos reatores UASB na ETE *Laboreaux*, localizada em Itabira – MG. Nesse estudo, foi comparada a efetividade de remoção hidrostática da espuma para duas diferentes condições operacionais, variando a pressão na linha de gás e a altura da camada de espuma no interior do separador trifásico, acima e abaixo da canaleta de coleta da espuma no interior do separador trifásico, conforme ilustrado na Figura 2.4.

**Figura 2.4** - Condicionamento de lâminas para a remoção de espuma no estabelecimento da rotina operacional. (a) lâmina de 2 cm acima do coletor de espuma; (b) lâmina de 3 cm abaixo do coletor de espuma



Os resultados mostraram que foi possível obter uma eficiência satisfatória de remoção da espuma com o nível da interface espuma-biogás no interior de todos os STF posicionado a 3 cm abaixo da canaleta coletora de espuma e pressão total de 200 mm.c.a em relação ao nível de água no selo hídrico (Figura 4.4b). O desnível entre a canaleta de recolhimento do efluente tratado e a canaleta de remoção da espuma é igual a 17 cm. Uma vez definida a condição operacional do sistema de gases (pressão no selo hídrico), foram então realizados testes para se avaliar a eficácia do sistema de remoção da espuma. Os resultados mostraram-se satisfatórios para a remoção hidrostática da espuma acumulada nos três STF localizados na parte central do reator. O percentual de espuma que permaneceu após o descarte foi de 5 e 10%. No entanto, problemas de entupimento foram verificados nos separadores localizados nas extremidades do reator, tendo em vista a existência de apenas uma válvula de descarte simultâneo de espuma de todos os STF de um mesmo reator (ROSA *et al.*, 2012).

### 2.1.5 Aspectos da biodegradabilidade da espuma

Como foi relatado na revisão sobre o processo de formação e acumulação da camada de espuma, especialmente em reatores UASB, a espuma pode ser considerada um resíduo orgânico complexo, em função da elevada fração de lipídeos, proteínas e carboidratos. Embora a espuma seja passível de biodegradação aeróbia e anaeróbia, estudos envolvendo a espuma acumulada em separadores trifásicos são ainda escassos (PEREIRA, 2012). A tendência de uso de tecnologias por processos anaeróbios é mais indicada por mostrar-se mais economicamente viável quando comparada com a tecnologia aeróbia (BATSTONE *et al.*, 2000; VIDAL *et al.*, 2000), particularmente em função da possibilidade de aproveitamento energético do biogás gerado, a partir da biodegradação da espuma em etapas posteriores (pós-tratamento), visto que no caso dos reatores UASB, a espuma permanece separada do lodo anaeróbio sem chance de sofrer decomposição.

Em estudo realizado por Vidal *et al.* (2000), foram realizados testes de biodegradabilidade em efluentes sintéticos com alto teor de material complexo, em que foram comparados a biodegradabilidade de lipídeos, carboidratos e proteínas. Os resultados revelaram que a



biodegradação de lipídeos foi mais lenta quando comparada a dos carboidratos. Em seus experimentos em batelada, estes autores verificaram que para altas concentrações de DQO ( $5 - 20 \text{ g.L}^{-1}$ ) no substrato, o qual era constituído essencialmente por carboidratos e proteínas, houve acúmulo de AGV e diminuição na biodegradabilidade, principalmente na metanização. Com relação ao efeito das proteínas, os autores sugerem um possível efeito tóxico da amônia (nitrogênio amoniacal não ionizado) sobre os micro-organismos metanogênicos.

Os lipídios são compostos orgânicos muito estáveis, de difícil degradação pelos micro-organismos, podendo ser problemáticos no processo de tratamento de águas residuárias. Segundo Zeeman e Sanders (2001), dentre os lipídeos, os triglicerídeos são hidrolisados a ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) e posteriormente oxidados, pela via denominada “ $\beta$  oxidação”, aos intermediários acetato ou propionato. Dessa forma, a etapa de hidrólise torna-se limitante para a degradação de compostos complexos em orgânicos simples, a exemplo da conversão dos lipídeos (óleos, graxas e gorduras) a metano, pois depende da hidrólise destes e da acidificação dos ácidos graxos de cadeia longa, que comumente são relatados como causadores de problemas operacionais (CHERNICHARO, 2007) em função do efeito inibitório sobre as metanogênicas (RINZEMA et al., 1994; HWU et al., 1998; MASSE et al., 2001; HU et al., 2002).

Uma possível solução para o tratamento de resíduos complexos como a espuma, especialmente aqueles que apresentem elevadas concentrações de lipídeos, é a aplicação prévia de enzimas hidrolíticas, tais como as lipases. Segundo Mendes *et al.* (2005), a hidrólise enzimática pode reduzir os níveis de sólidos suspensos, lipídeos e proteínas, o que possibilita melhores condições de operação no tratamento anaeróbio. No entanto, esses efeitos dependem da especificidade das enzimas e do seu grau de pureza.

## **2.2 Utilização de enzimas no tratamento de águas residuárias**

### **2.2.1 Enzimas**

As enzimas são moléculas proteicas de alta massa molecular que atuam como catalisadores biológicos. Presentes em todas as células vivas, as enzimas desempenham uma função vital, são capazes de diminuir a energia de ativação (ordem de  $10^{14}$ ) requerida para formar um complexo de transição ativado que dará origem a um produto, aumentando a velocidade da reação sem alterar a constante de equilíbrio ou a variação de energia livre (CAMPBELL, 2000).

Em relação à ação exercida pelas enzimas, podem ser divididas em duas principais: as desmolases (endoenzimas) e hidrolases (exoenzimas). Grande parte das proteínas sintetizadas na célula são endoenzimas intracelulares ou citoplasmáticas, atuando no interior da célula, sendo responsáveis pela degradação de compostos orgânicos de onde provém a energia para os processos vitais, que somente podem ser obtidas pelo rompimento da célula. Há micro-

organismos (células) que também têm a capacidade de sintetizar enzimas que são excretadas para fora da célula (extracelulares), que promovem a transformação de compostos com cadeias complexas em mais simples, através da solubilização de algumas partículas orgânicas, propiciando a sua absorção pela membrana da célula, podendo ser encontradas no meio de cultivo ou de propagação celular (KIELING, 2002; ZANOTTO, 2003).

As enzimas podem ser comumente encontradas na natureza e obtidas a partir de fontes animais, vegetais e microbianas. A Tabela 2.1 apresenta as fontes, origens e principais métodos de obtenção de enzimas.

**Tabela 2.1-** Fontes, origem e principais métodos de obtenção de enzimas

Fonte	Origem	Métodos de obtenção
Micro-organismos	Bactérias, Fungos, Leveduras.	Cultura submersa ou semi sólida
Animais	Mucosas, Pâncreas, Fígado, Sangue.	Trituração de tecidos
Vegetais	Folhas, Látex, Talos, Caule.	Trituração de tecidos

**Fonte:** Adaptado de LIMA *et al.* (2001); VICENZI (2004).

O interesse no tratamento enzimático de efluentes se deve a fatores como: a) a presença cada vez maior de poluentes orgânicos xenobióticos e persistentes nos efluentes, diminuindo a possibilidade de utilização de tratamentos biológicos ou químicos convencionais de forma eficiente; b) a capacidade das enzimas de atuarem sobre poluentes específicos no tratamento; e c) os avanços na biotecnologia, que podem vir a permitir a produção de algumas enzimas de forma econômica (KARAM e NICELL, 1997).

O emprego do tratamento enzimático oferece outras vantagens, como a facilidade no controle dos processos; a facilidade de manuseio e estoque; e a operação em amplas faixas de pH, temperatura e salinidade, além da reutilização das enzimas através de técnicas de imobilização (DURÁN e ESPOSITO, 2000). Entretanto, o uso de enzimas pode apresentar alguns problemas, tais como: inibição da atividade, impossibilidade de separação e reutilização do catalisador livre ao final da reação e custos elevados dos biocatalisadores (CRECCHIO *et al.*, 1995).

Os custos para o emprego de lipases em indústrias ainda é elevado, sendo que estas enzimas devem ser ativas e estáveis em pH, temperatura, solventes, e condições específicas otimizadas para cada processo. Uma opção para diminuir os custos está no uso de lipases imobilizadas, que depende do desenvolvimento de técnicas e materiais apropriados, mantendo as propriedades cinéticas específicas destas enzimas, ou ainda a imobilização das próprias células microbianas íntegras. Alternativas estariam vinculadas a engenharia genética, embora, paralelamente, não devam ser preteridas às técnicas de isolamento e seleção de cepas microbianas selvagens, dada a vasta biodiversidade existente, que certamente fornecerá

micro-organismos que possuam lipases com as características desejadas para uso nos diversos processos biotecnológicos.

As enzimas têm sido aplicadas no tratamento de diversos tipos de efluentes, tais como: efluentes com contaminantes fenólicos (DÚRAN e ESPOSITO, 2000); tratamento de resíduos da indústria de celulose e papel (ROBLES *et al.*, 2002); remoção de poluentes da indústria têxtil (MUSSATTO *et al.*, 2007); na desidratação de lodos (KARAM e NICELL, 1997); na remoção de borras oleosas da indústria petroleira (BON e PEREIRA, 1999); na biodegradação de efluentes zootécnicos, provenientes da indústria de laticínios e frigoríficos, que apresentam em sua composição um elevado teor de gorduras (MASSE *et al.*, 2001).

A Tabela 2.2 apresenta um resumo das principais enzimas utilizadas no tratamento de diferentes efluentes.

**Tabela 2.2- Principais enzimas utilizadas no tratamento de efluentes industriais**

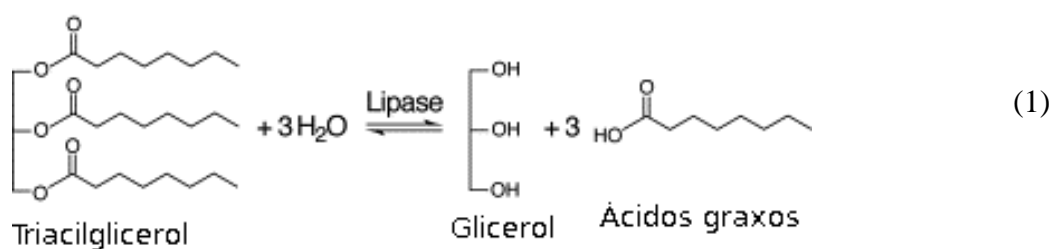
Enzimas e Fontes	Aplicações
Celulase ( <i>Trichoderma viride</i> )	Pré-tratamento termoquímico de celulignina.
Cianidase ( <i>Fusarium solani</i> ) ou Cianidase hidratase ( <i>Trichoderma sp.</i> )	Remoção de compostos derivados de ácidos cianídico, por ex. fabricação de farinha de mandioca.
Monooxigenase e Iminodiacetato deidrogenase (gêneros <i>Chelatobacter</i> e <i>Chelatococcus</i> )	Remoção de compostos derivados de ácidos aminopolicarboxílicos, por ex. EDTA, em efluentes municipais.
Oxirredutases e NTA Deidrogenase (gêneros <i>Chelatobacter</i> e <i>Chelatococcus</i> )	Remoção de compostos derivados de ácidos aminopolicarboxílicos, por ex. EDTA, em efluentes municipais.
Polifosfatase e Fosfotransferase	Remoção de fosfato biológico de efluentes.
Nitrogenase ( <i>Klebsiella oxytoca</i> )	Remoção de excesso de lodo e proteínas em estações de tratamento de efluentes.
<b>Proteases</b>	
Protease pronase ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> )	Inativação de vírus bacteriófago Cox A9 de efluentes, para reutilização da água.
Oxirredutases ( <i>Pseudomonas syringae</i> )	Remoção de compostos fenólicos e catecol.
Acetilcolinesterase e enzimas antioxidantes	Degradação de pesticidas de ambientes marinhos.
Carbaril Hidrolase ( <i>Arthrobacter sp.</i> RC100)	Degradação de inseticidas à base de N-metilcarbamato.
Naftaleno-dioxigenase	Remoção de naftaleno.
Catalase ( <i>Bacillus sp.</i> )	Remoção de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> presente em efluentes de branqueamento de tecidos.
β-Glicosidase e Manganês peroxidase ( <i>Phanerochaete chrysosporium</i> e <i>Pleurotus sajorcaju</i> )	Remoção de corantes da indústria de alimentos e da indústria têxtil.
<b>Lipases</b>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Redução do teor de lipídeos em efluentes de restaurantes.
Pancreática – PL250	Redução do tamanho das partículas de lipídeos, de efluente de matadouros, em até 60%
<i>Penicillium P4</i>	Redução do teor de DQO de efluente da indústria de óleo de oliva, em 60%
<i>Penicillium restrictum</i>	Remoção de DQO, em termos de lipídeos, de efluente da indústria de derivados lácteos
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Redução de DQO, em até 80%, de efluente da indústria de extração de óleo de oliva
<i>Anicetobacter sp.</i>	Redução do teor de lipídeos de efluentes de restaurantes
<i>Candida rugosa</i>	Redução do teor de lipídeos e DQO de efluentes de abatedouros de frango
Pâncreas de porco	Redução do teor de lipídeos e de sólidos suspensos de efluentes da indústria de derivados lácteos
Lacase ( <i>Coriolus versicolor</i> e <i>Funalia trogii</i> )	Tratamento de efluentes da indústria têxtil
( <i>Chalara</i> (syn. <i>Thielaviopsis</i> ) <i>paradoxa</i> )	Remoção de compostos fenólicos da indústria de extração de óleo de oliva
( <i>Trametes versicolor</i> )	Remoção de pesticidas à base de uréia , N',N'-(dimetil)-N-(2-hidroxiifenil) uréia (2-HF)
( <i>Lentinula edodes</i> )	Remoção de compostos fenólicos, polifenóis e orto-difenóis, da indústria de extração de óleo de oliva
Lacase e Manganês peroxidase:	Remoção de hidrocarbonetos aromáticos na indústria petrolífera
( <i>Trametes versicolor</i> )	
( <i>Panus triginus</i> )	Remoção de compostos fenólicos da indústria de extração de óleo de oliva
( <i>Geotrichum sp.</i> CCMI 1019)	Remoção de compostos azo, tintas, presentes em efluentes da indústria têxtil
( <i>Phanerochaete flavido-alba</i> )	Remoção de compostos fenólicos e cor
<b>Peroxidases</b>	
Lignina peroxidase ( <i>Phanerochaete chrysosporium</i> )	Tintas, clorofenóis, dibenzo[p]dioxinas, metoxifenóis, metilfenóis, 2-nitrofenol, fenol, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e licor de madeira pinus obtido por explosão à vapor
Manganês peroxidase ( <i>Phanerochaete flavido-alba</i> )	Efluentes de indústrias de extração de óleo de oliva, ricos em compostos fenólicos
Peroxidase de soja	Remoção de compostos fenólicos da indústria de extração de óleo de soja
Tirosinase ( <i>Agaricus bisporus</i> )	Degradação de compostos fenólicos

**Fonte:** MENDES *et al.*, (2005)

## 2.2.2 Lipases

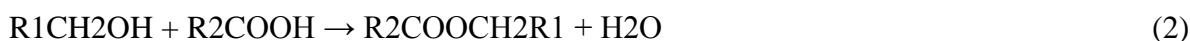
Dentre as reações catalisadas pelas enzimas, as lipases (glicerol éster hidrolases E.C. 3.1.1.3) se destacam no tratamento de efluentes em função da sua atuação na hidrólise de ligação éster em triglicerídeos, em meio aquoso, produzindo diglicerídeos, monoglicerídeos, glicerol e ácidos graxos (Figura 2.5), conferindo a sua especificidade (SAXENA *et al.*, 2003).

**Figura 2.5-** Hidrólise de um triacilglicerol catalisada por lipases (JAEGER e REETZ, 1998).



Em meio aquoso-restrito, as lipases catalisam a reação reversa, catalisando reações de esterificação, isto é, a síntese reversa a partir de longas cadeias de ácidos graxos e glicerol. Outra reação catalisada pela lipase é a interesterificação, reação onde um ácido graxo, um álcool ou um éster reagem com o triacilglicerídeo (TAG), produzindo diferentes triacilglicerídeos. Dependendo do substrato da reação, esta também pode ser chamada de alcoólise, acidólise ou transesterificação (SAXENA *et al.*, 1999; HASAN *et al.*, 2006). As reações catalisadas pela lipase são descritas abaixo:

Esterificação



Transesterificação



Interesterificação



Na literatura são frequentemente usados os termos lipase e esterase, mas ainda existia certa divergência entre a definição exata dos termos. Porém, nos trabalhos mais recentes, as lipases têm sido definidas como enzimas que hidrolisam substratos insolúveis como triglicerídeos compostos por ácidos de cadeia longa. Por outro lado, as esterases atuam sobre substratos solúveis, principalmente ésteres simples como acetato de etila, ou seja, hidrolisam apenas triglicerídeos compostos por ácidos graxos de cadeias menores, com comprimento de até oito

átomos de carbono (SHARMA *et al.*, 2001; BORNSCHEUER, 2002; JAEGER *et al.*, 1999). Enfatiza-se também que a maioria das lipases pode hidrolisar os substratos das esterases, enquanto o inverso não é verdadeiro (JAEGER e EGGERT, 2002).

Na ausência de interface óleo/água, as lipases requerem uma ativação interfacial para sua total atividade catalítica. Essa interface corresponde em nível molecular a um grupo de camadas adjacentes de moléculas ordenadas, sendo uma de natureza mais hidrofóbica e outra mais hidrofílica. Mesmo em presença de solventes hidrofóbicos existe uma pequena quantidade de água ao redor da estrutura das enzimas que fornece a interface necessária para a ativação da lipase (MENDES *et al.*, 2006).

A hipótese proposta para explicar a ativação interfacial é a alteração conformacional da estrutura da lipase. O sítio ativo da maioria das lipases é coberto por uma superfície entrelaçada (estrutura helicoidal), denominada de tampa (ou borda), deixando inacessível ao substrato. Na presença de substâncias hidrofóbicas, a tampa se abre, alterando a forma fechada da enzima para a forma aberta, com o centro ativo agora acessível aos substratos e, ao mesmo tempo, expondo uma larga superfície hidrofóbica da enzima, que facilita a ligação da lipase com a fase lipídica da interface (FREIRE e CASTILLIO, 2008; JAEGER *et al.*, 1999). As lipases obtidas dos micro-organismos *Candida Antarctica*, *Thermomyces (Humicola) lanuginosa* e *R. miehei* são exemplos de lipases que apresentam a tampa em suas estruturas e sofrem ativação interfacial (BRADY *et al.*, 1990). Entretanto, nem o critério de ativação interfacial, nem o da existência da tampa são suficientes para a caracterização de uma lipase. Por isto, a caracterização de lipases com base no conceito de ativação interfacial foi substituída pela definição de que lipases são carboxilesterases capazes de catalisar a hidrólise de acilgliceróis de cadeia longa (FREIRE e CASTILLIO, 2008).

Dependendo da fonte, as lipases podem apresentar massa molecular variando entre 20 a 75 kDa, com cerca de 300 resíduos de aminoácidos (VULFSON, 1994), atividade ótima na faixa de temperatura entre 30 e 40°C, variando desde a ambiente até 70°C. Usualmente, são ativas em ampla faixa de pH, apresentando alta atividade na faixa entre 5,0 e 9,0 (MENDES, 2004). Sua termoestabilidade pode variar consideravelmente em função de sua origem, ou mesmo entre enzimas produzidas por um mesmo micro-organismo, sendo as de origem microbiana as que possuem maior estabilidade térmica (PEREIRA, 2004). Essas variações dependem do método e do substrato utilizado e das condições do ensaio, como pH e temperatura (BUENO, 2005).

### **2.2.3 Fatores que influenciam o processo de hidrólise de lipídeos**

Diferentes fatores podem influenciar no desempenho da hidrólise de óleos e graxas. Dessa forma, diversas técnicas têm sido empregadas para elevar a taxa de hidrólise utilizando lipases como catalisadores. Dentre esses, podemos citar os mais estudados:

- Interface fase aquosa / fase oleosa: a formação de uma interface lipídeo/água e a adsorção da enzima nesta interface são dois requisitos essenciais para a reação de hidrólise. Assim, quanto maior a interface, maior será a quantidade de enzima adsorvida, acarretando velocidades de hidrólise mais elevadas (PEREIRA, 2004).
- Influência do tipo de agente emulsificante: apesar do efeito dos agentes emulsificantes em lipases não ter sido extensivamente estudado, a goma arábica e o Triton X-200 são os emulsificantes mais utilizados na análise da atividade lipolítica sobre triglicérides, conduzindo elevada atividade. A escolha do tensoativo para estabilizar emulsões na determinação de atividade lipolítica deve ter em conta que a atividade da lipase varia tanto em função do tipo de tensoativo, como da sua concentração (MOZAFFAR *et al.*, 1994). No entanto, o uso de tensoativo iônico não é recomendado porque pode deslocar o equilíbrio iônico (MENDES *et al.*, 2006).
- Efeito da agitação na velocidade de reação: para o caso da lipase situada na interface óleo-água, a agitação mostra-se um fator essencial para aumentar a frequência das colisões entre a enzima e o substrato, de modo a acelerar o desenvolvimento da reação enzimática (GROSS, 1996).
- Concentração de substrato: a velocidade de uma reação catalisada por enzimas aumenta conforme a concentração de substrato, até atingir uma velocidade máxima. A obtenção de um platô na velocidade de reação em altas concentrações de substrato reflete a saturação pelo substrato de todos os sítios de ligação disponíveis na enzima (CHAMPE e HARVEY, 1996).
- pH: a maioria das enzimas apresenta um pH característico em que sua atividade é máxima, chamado pH ótimo da enzima, acima ou abaixo do qual a atividade decresce. O pH ótimo está associado ao tipo de substrato, estado de pureza da lipase, tampão e métodos de ensaio. Entretanto, grande parte das lipases tem uma atividade ótima em pH alcalino (CHAMPE e HARVEY, 1996).
- Temperatura: quanto maior a temperatura, maior a velocidade da reação até atingir uma temperatura ótima, na qual ocorre a sua atividade máxima. A partir dela, a atividade volta a diminuir por desnaturação da molécula, em que temperaturas elevadas alteram as estruturas da enzima, afetando a sua configuração espacial. Como a ligação da enzima ao substrato depende da forma da molécula da enzima, se a mesma for alterada, conseqüentemente a sua função também será. Em temperaturas acima de 70°C, normalmente, as reações enzimáticas cessam, pois ocorre a desnaturação completa e irreversível da maioria das enzimas (CHAMPE e HARVEY, 1996).

Dessa forma, alguns aspectos relevantes devem ser observados antes da utilização de um tratamento enzimático, tais como: toxicidade dos produtos da reação, que devem ser mais biodegradáveis ou mais facilmente removidos nos tratamentos subseqüentes que os compostos originais; a enzima deve ser capaz de catalisar seletivamente a degradação do composto alvo no efluente real; a enzima deve ser ativa e estável nas condições típicas de

tratamento, considerando que podem ocorrer variações na composição química do efluente, assim como o pH e temperatura podem não estar nos valores ótimos de atuação da enzima; os biorreatores para os processos enzimáticos devem ser simples e as enzimas facilmente obtidas, com baixos custos e sem necessidade de cofatores caros (AITKEN *et al.*, 1994).

#### **2.2.4 Tratamento de efluentes com alto teor de lipídeos utilizando lipases**

A grande aplicabilidade das lipases deve-se particularmente ao fato da hidrólise ser específica com óleos e graxas, que é de grande interesse para os diferentes usos (LEAL *et al.*, 2002). Na área industrial, existe uma vasta aplicabilidade das lipases em diversos processos, podendo ser aplicadas em detergentes, na indústria alimentícia, na indústria de celulose (produção de papel), modificação de óleos e gorduras industriais, na indústria farmacêutica, química fina, dentre outras aplicações.

Atualmente, o tratamento de efluentes também representa um campo de vasta aplicação para as lipases, seja na prevenção ou limpeza de filmes gordurosos como no tratamento de efluentes provenientes de atividades zootécnicas e alimentícias, como uma alternativa ou complemento aos tratamentos convencionais (MASSE *et al.*, 2001; LEAL *et al.*, 2006; JEGANATHAN *et al.*, 2007; RIGO *et al.*, 2008; VALENTE *et al.*, 2010; VALLADÃO *et al.*, 2011).

Leal *et al.* (2002) sugere que o tratamento enzimático ideal consiste em tratar previamente o efluente com uma preparação enzimática. O efluente pré-hidrolisado segue então para a ETE com uma carga orgânica com menor teor de O&G, reduzindo os problemas operacionais causados nos reatores, além da redução do TDH, do volume dos reatores e, conseqüentemente, os custos do processo.

Normalmente são utilizados extratos brutos ou enzimas não purificadas, em concentrações maiores, as quais geralmente apresentam menor eficiência enzimática (RIGONI *et al.*, 2003). Por outro lado, enzimas purificadas, que geralmente apresentam maior atividade específica, por apresentarem-se na forma mais concentrada, são mais onerosas em função do processo de obtenção e podem tornar a aplicação industrial do processo inviável. Sendo assim, o maior desafio ainda está na busca de enzimas com menores custos.

Pesquisas envolvendo a produção e utilização de enzimas de menor custo, obtidos de fungos do gênero *Penicillium* a partir de resíduos agroindustriais (como a torta de babaçu), no tratamento de efluentes, vem sendo realizadas pelo grupo de pesquisa de processos biotecnológicos do Instituto de Química da UFRJ. Têm sido relatados resultados satisfatórios, em escala laboratorial, com a utilização de enzima obtida através da fermentação em meio sólido, no tratamento de diversos efluentes industriais (CAMMAROTA *et al.*, 2001; JUNG *et al.*, 2002; LEAL *et al.*, 2002; 2006; VALLADÃO *et al.*, 2007; ROSA *et al.*, 2009; VALENTE *et al.*, 2010; VALLADÃO *et al.*, 2011). No entanto, esta enzima ainda não se encontra disponível comercialmente.



Os estudos com a aplicação de enzimas em efluentes com alto teor de lipídeos têm como principais objetivos a redução de eventuais problemas causados pela grande quantidade de óleos e gorduras presentes no efluente, mostrando-se uma ferramenta importante para a minimização destes compostos e o aumento da eficiência de degradação anaeróbia, ou seja, a maximização da produção de biogás e redução dos valores de DBO e DQO (LEAL *et al.*, 2006). Valladão *et al.* (2007) enfatizam que ocorre a aceleração das reações, possibilitando a redução do TDH.

#### 2.2.4.1 Aplicação de lipases microbianas no tratamento de efluentes com alto teor de lipídeos

A hidrólise e biodegradação de efluentes com alto teor de lipídeos empregando lipases vêm sendo pesquisada intensivamente nas últimas décadas. A tendência dos estudos está voltada para reações de hidrólise de gorduras, através da utilização de lipases microbianas em reações buscando a mais eficiente produção de ácidos graxos (KOLOSSVÁRY, 1996; BOUWER *et al.*, 2001) e biodegradação de efluentes industriais com alto teor de lipídeos.

Um pré-tratamento enzimático de efluente de matadouro foi realizado empregando a enzima de origem animal (lipase pancreática – PL 250) para avaliar o efeito na hidrólise de partículas de gordura e remoção de DQO. Os resultados mostraram que o tamanho das partículas no efluente hidrolisado com  $2,5\text{g.L}^{-1}$  de enzima foi reduzido após 4 horas de hidrólise. Os valores referentes aos diâmetros das partículas variaram entre 0,71 (com  $25\text{mg.L}^{-1}$  de PL 250) a 0,32 (com  $25\text{mg.L}^{-1}$  de PL 250). No entanto, não foi observada uma redução significativa da DQO (MASSE *et al.*, 2001).

A hidrólise de lipídeos de efluentes gerados em frigoríficos avícolas, empregando lipase microbiana de *Candida rugosa* foi realizada por Pereira *et al.* (2003), obtendo-se uma porcentagem de hidrólise máxima de 20,9%, após 12 horas de tratamento, a qual elevou a porcentagem de hidrólise dos lipídeos para 35%.

A lipase comercial Lipolase foi estudada no tratamento do flotado obtido de efluentes de frigorífico de suínos e bovinos. Essa enzima destaca-se pela sua grande especificidade em hidrolisar gorduras, utilizadas na fabricação de detergente, além da sua capacidade em larga faixa de pH e temperatura. Os resultados revelaram que a Lipolase é adequada para a realização da pré-hidrólise de efluentes com alto teor de gordura (RIGO *et al.*, 2008).

A lipase de *Candida rugosa* (Lipase - MY) também tem sido empregada em estações de tratamento de efluentes nos Estados Unidos, para a remoção de gorduras em equipamentos (RUSTON, 1993). Lipases também têm sido usadas na remoção de gorduras de aeradores de estações de tratamento que empregam o processo de lodos ativados (JUNG *et al.*, 2002). Mendes *et al.* (2005) acrescenta que o tempo de vida útil de equipamentos industriais e de estações de tratamento de efluentes eleva-se com a remoção de sólidos, como gorduras.

Vários pré-tratamentos hidrolíticos aplicados em resíduos de lodos ativados revelaram uma maior dificuldade de hidrólise da fração lipídica, quando comparada a outros componentes como carboidratos e proteínas (KARLSSON, 1990). Cail *et al.* (1986) utilizaram uma mistura enzimática, composta por protease, amilase, celulase e lipase, em efluentes com elevados teores de gordura e observaram um aumento de remoção de DQO, O&G e uma redução no teor de sólidos. Por outro lado, quando este mesmo preparado foi adicionado diretamente no reator aeróbio de bancada, não foi observada uma diferença significativa destes parâmetros (RINTALA e AHRING, 1994 apud MASSE *et al.*, 2001).

Estudos envolvendo a biodegradação anaeróbia foram realizados por Cammarota *et al.* (2001), que obtiveram resultados satisfatórios no tratamento de efluentes de laticínio com níveis de gordura de 868 mg.L<sup>-1</sup> pré-tratado enzimaticamente com 0,1% (m/v) de um PES (preparado enzimático em meio sólido) obtido em meio de cultura empregando torta de babaçu. As reduções de DQO e sólidos suspensos foram de 90% e 75%, respectivamente. Resultados semelhantes foram obtidos por Jung *et al.* (2002), utilizando 0,2% m/v de PES obtido da torta de babaçu.

Robles *et al.* (2002) avaliaram o isolado fúngico *Penicillium* P4, obtido de um efluente da indústria de óleo de oliva, para a biodegradação deste efluente, contendo 114.000 mg.L<sup>-1</sup> de DQO. Após 20 dias de incubação, à temperatura de 28°C, observou-se uma redução de 61% na DQO inicial do efluente.

Efluentes de laticínios contendo elevados teores de óleos e graxas (O&G) foram tratados em reator UASB de bancada. Quando submetido à alimentação com efluente contendo 800 mg de O&G.L<sup>-1</sup>, o reator entrou em colapso. No entanto, quando o efluente foi pré-tratado com um pool de enzimas hidrolíticas este efeito foi revertido, gerando um efluente tratado de boa qualidade, com remoção de 90% de DQO (CAMMAROTA *et al.*, 2001).

Masse *et al.*, (2003) avaliaram o tratamento enzimático de efluente de abatedouro de suínos em reator anaeróbio em batelada sequencial a 25°C. Não foi encontrada diferença na diminuição de partículas entre o efluente hidrolisado e o efluente não hidrolisado. Contudo, observou-se uma conversão de DQO em metano na ordem de 82%. Porém, os autores relataram uma limitação na produção de metano em função do acúmulo de ácidos promovidos pela hidrólise. Resultados semelhantes foram relatados por Cirne *et al.* (2007), que avaliaram o efeito da aplicação de lipase no tratamento de efluente sintético com alta concentração de lipídeos.

Os efeitos da pré-hidrólise enzimática no tratamento anaeróbio de efluentes lácteos foram analisados por Leal *et al.* (2006) que obtiveram remoção média de 90% da DQO nos tratamentos com 200, 600 e 1000 mg.L<sup>-1</sup> da concentração de óleos e gorduras. Jeganathan *et al.*, (2007) obtiveram uma redução de DQO e O&G de 49 e 45% sem pré-tratamento e 65 e 64% com pré-tratamento, respectivamente, do efluente de uma indústria de ração de animais domésticos de pequeno porte, utilizando uma lipase imobilizada.

Avaliando lipases de duas diferentes fontes comerciais LNU (lipase pancreática Nuclear) e LKN (lipase pancreática Kim Master), com concentrações variando entre 0,10 a 0,35% (p/v), Dors (2006) obteve um volume acumulado de metano de até 1.252 e 1.138 ml, respectivamente, em que foram avaliados em biodigestores com volume total de 300 ml, durante 34 dias. No entanto, Leal *et al.* (2006) não observaram diferenças significativas nas porcentagens de metano entre os biodigestores contendo efluente pré-hidrolisado e os não hidrolisados. Mesmo quando foram comparadas as diferentes concentrações de óleos e gorduras, os teores de metano foram semelhantes.

Em investigação realizada por Valladão *et al.* (2007) sobre a biodigestão anaeróbia do efluente de abatedouro de aves com crescentes níveis de inclusão de lipase de preparado enzimático produzido pelo fungo do gênero *Penicillium* em fermentação em meio sólido (0; 0,1; 0,5 e 1,0% do volume na carga inicial) observaram que a eficiência de remoção de DQO aumentou de 53 para 85%, quando se promoveu a adição de enzima no nível de 0,1%, em comparação com o efluente não hidrolisado. Para a produção de biogás obtida, os autores observaram que a produção aumentou de 37 para 175 mL, em 4 dias de avaliação. Avaliando efluente de indústria de pescado com 1.500 mg O&G.L<sup>-1</sup> e 0,5% de PES (preparado enzimático sólido), Valente *et al.* (2010) também obtiveram um aumento de 2,7 vezes da produção de metano com efluente após 8 horas de hidrólise.

O desempenho de um sistema anaeróbio de tratamento de efluentes submetidos à alimentação que simulava um efluente de uma indústria de produtos lácteos foi avaliado por Rosa *et al.*, (2009). O resíduo foi produzido de forma que apresentasse em sua composição uma DQO de aproximadamente 3,5 g DQO.L<sup>-1</sup> e com um pH na faixa de neutralidade (7,0). Também foram utilizados óleos e gorduras removidos de uma unidade de flotação em um indústria de produtos lácteos, para serem usados na obtenção de um teor de O&G de 1.200 mg.L<sup>-1</sup>, pré-tratado com 0,1% (m/v) de preparado enzimático. Os autores observaram que os biodigestores alimentados com efluente bruto apresentaram maior variabilidade na DQO, devido à presença de partículas de gordura suspensas. Nestas condições, a DQO final apresentou valores semelhantes aos da DQO inicial. A adição de efluente pré-hidrolisado na alimentação dos biodigestores resultou em uma DQO final menor, ratificando assim o efeito do pré-tratamento enzimático sobre as partículas de gordura.

Efeitos de um PES (preparado sólido enzimático) rico em lipase, produzido pelo fungo *Penicillium restrictum*, foram avaliados em reatores UASB com volume total de 1,87L, no tratamento de efluente avícola com 800mg de O&G.L<sup>-1</sup>. Os reatores foram operados a 30°C sob duas cargas orgânicas volumétricas (3,9 e 7,3 kg DQO.m<sup>3</sup>.dia<sup>-1</sup>). No reator alimentado com efluente bruto, 178 e 642 mL de CH<sub>4</sub>.dia<sup>-1</sup> e 89,8% e 91,0% de remoção de DQO foram verificados no primeiro e segundo regime, respectivamente. O reator alimentado com águas residuais previamente hidrolisadas mostrou valores mais elevados de produção de metano, bem como níveis elevados de remoção de DQO (367 e 882 mL de CH<sub>4</sub>.dia<sup>-1</sup> e 90,4% e 93,5% no primeiro e segundo regime de tratamento, respectivamente). Entretanto, o maior impacto

sobre a aplicação da lipase foi a melhoria das condições de funcionamento. No reator controle, ocorreram episódios frequentes de entupimento das saídas de efluentes e de biogás por espuma acumulada, o que não aconteceu no reator alimentado com efluente previamente hidrolisado, mesmo depois de 276 dias de operação contínua. Análise de O&G na espuma e biomassa recolhida a partir de diferentes alturas do leito de lodo e fotos do separador de três fases e a superfície do líquido na extremidade do período de funcionamento a partir de ambos os reatores, mostrou uma acumulação de gordura substancialmente maior no reator controle (VALLADÃO *et al.*, 2011).

#### Lipases de *Thermomyces (Humicola) lanuginosa*

Em 1994, a Novo Nordisk introduziu a primeira lipase comercial recombinante, a Lipolase® (Novozyme A/S-Bagsvaerd-Denmark). A Lipolase é o nome de uma preparação comercial que contém a lipase extracelular obtida do fungo *Thermomyces lanuginosa* (classificada anteriormente com o *Humicola lanuginosa*), produzida através de técnicas de engenharia genética. Lipolase 100L é uma preparação líquida comercial amplamente utilizada no segmento de detergentes e sabões em pó. Esta enzima hidrolisa gordura clivando a ligação éster nas posições 1 e 2 nas moléculas de triglicerídeos. Os produtos de hidrólise são mono e diglicerídeos, glicerol e ácidos graxos livres. A enzima apresenta uma grande especificidade pelo substrato, promovendo a hidrólise de diferentes óleos e graxas (BOLETIM NOVOZYME A/S-BAGSVAERD-DENMARK, 2001).

Além de tratar-se de uma enzima comercialmente disponível, a lipase de *T. lanuginosa* (Lipolase) apresenta capacidade em atuar em larga faixa de temperatura (20 a 50°C) e de pH (6 a 11) (COSTA *et al.*, 1999). Além disso, por se tratar de uma enzima comercial pioneira, esta enzima também tem sido utilizada como base para a comparação do desempenho de outras novas enzimas (LEAL *et al.*, 2002; RIGO *et al.* 2008). Estas características justificam a investigação de seu potencial como biocatalisador no tratamento de efluentes com alto teor de lipídeos.

#### 2.2.4.2 Aplicação potencial da enzima papaína no tratamento de efluentes com alto teor de lipídeos e proteínas

As enzimas obtidas a partir de espécies vegetais são também conhecidas por suas propriedades proteolíticas e que apresentam atividade lipolítica em reações de hidrólise, sendo classificadas como lipases verdadeiras (MUKHERJEE, 1994). Essas lipases, além de possuírem elevada seletividade e especificidade (em alguns casos muito similares às microbianas), apresentam baixo custo de produção por não necessitarem de um alto grau de purificação e serem disponíveis no mercado como enzimas proteolíticas brutas (GIORDANI *et al.*, 1991).

As enzimas proteolíticas comumente conhecidas como papaínas (peptídeo peptidohidrolases, papaína e quimopapaína) (CANDIDO, 2001) apresentam um grande potencial no tratamento

de efluentes ricos em lipídeos e proteínas. Isso porque a papaína, em sua forma crua ou bruta, possui uma mistura de enzimas de propriedades lipolíticas e proteolíticas presentes no látex do fruto verde de *Carica papaya*, nas folhas e no tronco do mamoeiro (MEZHLUMYAN *et al.*, 2003; CHAIWUT *et al.*, 2007) e apresentam ação catalítica sobre peptídeos, amidas e ésteres, especialmente sobre bases aminoácidas, leucina ou glicina (DIXIN e WEEB, 1971).

O mercado mundial de papaína situa-se na faixa de 200 a 400 toneladas anuais. O Brasil apresenta, em várias regiões de seu território, condições de clima e solo favoráveis à cultura do mamoeiro, sendo as maiores plantações localizadas nos estados do Espírito Santo e Bahia. Apesar dos diferentes tipos de indústria utilizarem a papaína em escalas cada vez maiores, os produtores brasileiros praticamente ignoram tal dado, seja por desconhecimento do seu valor comercial, seja por desconhecimento da tecnologia de produção (IBRAF, 2012).

A papaína apresenta uma massa em torno de 20,7 kDa, com pH ótimo de ativação próximo de 5,0, embora haja variação em função do substrato, como por exemplo a albumina de ovos, em que o pH ótimo é 7,0. Além disso, estas enzimas possuem uma ótima estabilidade térmica que permite serem ativas a temperaturas variando de 4 até 70°C, sendo apenas dependentes do pH, que é crítico em condições ácidas abaixo do seu ótimo. Em seus sítios ativos, apresentam os grupos tíóis (compostos organossulfurados), que são ativos quando se encontram sob a forma reduzida. Desta maneira, substâncias como o cianeto, a cisteína e o sulfeto são agentes ativadores, enquanto que agentes oxidantes e metais pesados são inibidores desta enzima (LIMA *et al.*, 2001). Na determinação da atividade lipásica utilizando óleo de oliva como substrato, as condições ótimas encontradas de temperatura foi de 37 °C e pH igual a 9,0. Ademais, a atividade específica da lipase de látex de *Carica papaya* foi de 256 U.g<sup>-1</sup> (ABDELKAFI *et al.*, 2011).

Uma característica relevante para o uso da papaína está no custo relativamente baixo, pois pode ser utilizada na forma bruta, a fim de reduzir custos com o processo de purificação. Constata-se também a tendência de uma larga aplicação em escala industrial que pode ser viabilizada pelo seu reaproveitamento, que pode ser conseguido com a imobilização da enzima, embora ocorra um aumento relativo no custo (LIMA *et al.*, 2001).

A papaína constitui a enzima vegetal mais amplamente empregada no setor industrial. Sua maior aplicação tem sido voltada para a fabricação de bebidas, na eliminação da turvação nas cervejas; e em alimentos, como na panificação para melhorar a textura do pão e no amaciamento de carnes e derivados. Além disso, tem sido empregada nas indústrias farmacêuticas, como auxiliar na digestão humana; na remoção de manchas de origem biológica, como o sangue e molhos; em indústrias de luvas; em curtume, empregada na remoção de pelos e amaciamento do couro; indústria de cosméticos, entre outras (HAYASHI *et al.*, 1993; PAQUES e MACEDO, 2006; SANGEETHA *et al.*, 2006; LI *et al.*, 2007).

A atividade lipolítica no látex de *Carica papaya* foi observada em 1935 por Frey-Wyssling, conforme relatado por Giordani *et al.* (1991), porém apenas a partir da década de 90 a lipase

de papaína bruta passou a ser a mais estudada dentre as lipases vegetais. Esta enzima foi caracterizada em reação de hidrólise como tipo-seletiva para triacilgliceróis de cadeias curtas a longas, homogêneos de 2 a 18 carbonos (GIORDANI *et al.*, 1991) e óleos naturais como oliva, linhaça, copra (poupa seca do coco) e girassol (CARO *et al.*, 2000). A temperatura ótima da hidrólise foi de 55 °C (pH 8,0) e a energia de ativação de Arrhenius foi de 24 kcal/mol (GIORDANI *et al.*, 1991). Essa elevada atividade e tipo-seletividade em hidrólise demonstraram o potencial dessa enzima vegetal em aplicações de transformação de óleos, síntese de aromas específicos e ácidos graxos (PAQUES e MACEDO, 2006).

Por outro lado, a atividade lipolítica não foi detectada em enzimas comerciais purificadas e refinadas do tipo papaína, ω- papaína e quimopapaína, provavelmente em função da eliminação da lipase durante o processo de purificação (GIORDANI *et al.*, 1991; CARO *et al.*, 2000). Sendo assim, o extrato bruto equivale à única fonte dessas lipases. Nesses mesmos estudos, verificou-se alguns compostos inibitórios da lipase obtida do látex de *Carica papaya*, por exemplo, os reagentes lipofílicos, sulfidrílicos, dodecil ditio 5-(2-ácido nitrobenzóico), quelantes (EDTA) e o 5,5'-ditiobis-(2-ácido nitrobenzóico). Acrescenta-se ainda que a presença de íons  $Ca^{+}$ , ao contrário do observado para algumas lipases, não interferiu na atividade lipolítica, comprovando que essa enzima não depende da presença desse ativador (GIORDANI *et al.*, 1991).

A atividade lipásica demonstrou variar quanto à espécie de *Carica papaya*. Em estudo comparativo entre esta lipase disponível comercialmente na forma de papaína crua e a lipase extraída de diferentes espécies de mamoeiro (*Deshai*es e *Martinique*) verificou-se alteração na atividade tanto na reação de hidrólise quanto na interesterificação entre triacilgliceróis, ácidos graxos e ésteres. A atividade máxima obtida para lipase disponível no mercado foi de 1567  $U.g^{-1}$  e mínima para a espécie Martinique-2 com 145  $U.g^{-1}$  (CARO *et al.*, 2000).

Caro *et al.* (2000) verificaram que a lipase obtida do látex de *Carica papaya* apresentou alta capacidade de catalisar reação de hidrólise de triacilgliceróis quando comparada a outras de origem vegetal, como a bromelina bruta, nome comercial dado ao extrato enzimático de *Ananas comosus*. Nesse estudo comparativo, a atividade da lipase obtida do látex de *Carica papaya* foi 24 vezes maior que a de bromelina bruta.

Pesquisas referentes à aplicação da enzima papaína obtida do látex do fruto de *Carica papaya* no tratamento de efluentes são escassas, em que tem predominado o uso de lipases de origem microbiana. Entretanto, um estudo realizado por Biazuz *et al.* (2006) sobre a modelagem do processo de biodegradação de efluente sintético, simulando um efluente proteico de indústria de processamento de carnes, hidrolisados com enzimas de *Carica papaya*, obtidas do látex do mamão verde, em escala laboratorial, revelou as condições ótimas da catálise dessa enzima. As análises revelaram o potencial da papaína na biodegradação destes efluentes.

## **2.3 Análise crítica da literatura e contribuições do presente estudo**

### **2.3.1 Investigação da aplicação de enzimas no tratamento de efluentes com alto teor de lipídeos**

Estudos sobre a influência da composição do afluente, em termos de carboidratos, proteínas e lipídeos, demonstram que a hidrólise é o fator mais relevante na biodegradação de resíduos complexos, como a espuma. Dentre os compostos orgânicos, a fração de lipídeos representa a fração mais difícil e mais lenta, visto que estes apresentam baixa degradabilidade e alta estabilidade. Assim, a adoção de um tratamento enzimático como coadjuvante ao tratamento biológico tem sido relatada na literatura como uma alternativa promissora.

Os resultados de pesquisas envolvendo a aplicação de lipases no tratamento anaeróbio de efluentes com alto teor de lipídeos apontam um caráter promissor para a aplicação no tratamento da espuma proveniente de reatores UASB tratando esgoto doméstico. A partir da revisão de literatura realizada para o presente trabalho, verificou-se que a aplicação de enzimas tem gerado resultados satisfatórios em termos de elevação da eficiência de remoção de DQO e O&G e, conseqüentemente, maiores taxas de produção de metano. Contudo, ainda não se encontra consolidado o conhecimento sobre a aplicação de enzimas na degradação da espuma produzida em estações de tratamento de esgoto doméstico, particularmente em reatores UASB. Os estudos realizados até o momento têm focado, principalmente, sobre a cinética de hidrólise e biodegradabilidade anaeróbia de efluentes industriais, em escala laboratorial.

Por outro lado, a maior limitação do emprego das enzimas tem sido o elevado custo de obtenção. Os estudos realizados pelo Instituto de Química da UFRJ têm demonstrado que a enzima microbiana obtida de fungos do gênero *Penicillium*, a partir da fermentação em meio sólido, apresenta um processo mais simplificado de obtenção que pode viabilizar o uso desta enzima. No entanto, esta enzima ainda não se encontra disponível comercialmente.

Contribuição do presente estudo: Considerando a problemática gerada pela espuma nos reatores UASB tratando esgoto doméstico e a indisponibilidade de medidas que propiciem o seu controle efetivo, torna-se relevante a avaliação de alternativas que possibilitem a sua biodegradabilidade. Ademais, estudos mais aprofundados sobre o tratamento combinado da hidrólise enzimática e do tratamento biológico tornam-se necessários para avaliar a aplicabilidade dessa biotecnologia para outros tipos de resíduos, uma vez que não existem relatos na literatura sobre a aplicação de enzimas no tratamento da espuma gerada no esgoto doméstico. Acredita-se, portanto, que esta tese poderá trazer contribuições científicas importantes para o aprimoramento do funcionamento de reatores UASB aplicados ao tratamento de esgoto doméstico.

### **2.3.2 Investigação do uso potencial da papaína no controle da espuma**

A literatura aponta o uso potencial de enzimas vegetais como, por exemplo, a papaína extraída do látex do fruto verde de *Carica papaya* no tratamento de águas residuárias. A papaína em sua forma bruta ou crua apresenta um complexo enzimático rico em proteases e lipases, dentre outras enzimas, o que pode representar uma vantagem sobre a enzima comercial (Lipolase 100L) que é específica para a hidrólise de lipídeos. Ademais, a papaína crua apresenta menor custo de obtenção em função do seu processo de extração ser mais simplificado, logo que não é submetida ao processo de purificação. Embora o emprego da papaína na hidrólise de triglicerídeos e peptídeos tenha sido relatado na literatura, pesquisas referentes à aplicação da papaína no tratamento de efluentes são escassas. Assim, o presente trabalho se propôs a investigar o uso da papaína crua na biodegradação anaeróbia da espuma.

Contribuições do presente estudo: A contribuição do presente trabalho está na investigação de uma enzima com menor custo de produção na biodegradação da espuma, em escala laboratorial. Acredita-se que pode ser mais eficiente que a enzima comercial, em função de suas propriedades catalíticas sobre lipídeos e proteínas, o que pode resultar em aumento das taxas de produção de metano.

### **2.3.3 Investigação das medidas de controle da espuma**

Embora a revisão de literatura relate diversos problemas associados a espuma em estações de tratamento de esgoto doméstico, poucos estudos foram voltados para a solução do problema. Nesse sentido, algumas medidas têm sido empregadas na tentativa de promover o controle efetivo da espuma formada e acumulada em reatores UASB, particularmente no interior do separador trifásico, em que a remoção periódica da espuma tem sido a alternativa mais utilizada para o equacionamento do problema.

Conforme relatado na revisão de literatura, os avanços concentram-se apenas na melhoria do sistema de remoção e nas alterações de projetos, com o intuito de propiciar mecanismos de mistura hidráulica, visando à quebra das partículas para favorecer a biodegradação da espuma. Portanto, diante dos inconvenientes apresentados pelos dispositivos de remoção e ineficiência dos mecanismos de mistura visando à degradação da espuma, torna-se claro a necessidade de estudos voltados para o aprimoramento dos reatores UASB, no tocante ao gerenciamento efetivo da espuma.

Os estudos realizados por Rosa *et al.* (2012), visando o estabelecimento de um protocolo de remoção da espuma acumulada em reatores UASB, representam uma importante contribuição para o gerenciamento da espuma, revelando avanços no método de remoção hidrostática. Contudo, ainda não se encontra consolidado um protocolo de gerenciamento efetivo da espuma para estações de tratamento de esgoto que operam com reatores UASB. Assim, novos estudos tornam-se fundamentais para o controle efetivo da espuma, incluindo aspectos relacionados à sua remoção, valoração e destinação final.



Contribuições do presente estudo: A principal contribuição da pesquisa concentra-se no estabelecimento de um protocolo de gerenciamento da espuma para estações de tratamento de esgoto, envolvendo a determinação de coeficientes de produção, o estabelecimento de protocolos de remoção e de alternativas para o seu gerenciamento pós-remoção. Nesse sentido, o trabalho se propõe a investigar um sistema de peneiramento e de desidratação de espuma, o qual poderá oferecer novas alternativas para o aproveitamento energético desse subproduto do tratamento do esgoto.

## 3 PREMISSAS E HIPÓTESES

### 3.1 Preliminares

A presente tese foi fundamentada a partir das lacunas de conhecimento observadas na revisão da literatura, as quais subsidiaram o estabelecimento de premissas e a construção de hipóteses de investigação.

### 3.2 Premissas e justificativas para a investigação

A tese considerou dois cenários principais de investigação, conforme tratado a seguir.

#### 3.2.1 Cenário 1: tratamento enzimático e biodegradação anaeróbia da espuma

- (i) Diversos estudos demonstram o caráter inovador do emprego da biotecnologia a partir da aplicação de enzimas no tratamento de águas residuárias complexas, no caso particular das lipases. Isso porque essas enzimas tem a capacidade de catalisar reações de hidrólise de compostos orgânicos complexos (principalmente proteínas e lipídeos) em moléculas menores, sendo mais facilmente assimiláveis pelo consórcio microbiano, favorecendo o processo de biodegradação anaeróbia. Assim, novas investigações sobre a aplicabilidade das enzimas e de novas enzimas são relevantes para continuidade das pesquisas iniciadas.
- (ii) A eficiência do tratamento enzimático é comprovadamente satisfatória no tratamento de efluentes industriais, conforme reportado em diversas pesquisas que avaliaram sistemas de tratamento anaeróbio e aeróbio, em escala laboratorial. Os resultados dos trabalhos desenvolvidos demonstraram reduções importantes dos teores de DQO e de O&G, quando comparados aos tratamentos controle (sem adição de enzimas). Por outro lado, a aplicação do tratamento enzimático na biodegradação anaeróbia da espuma, com vistas ao aproveitamento energético deste resíduo é campo ainda inexplorado.
- (iii) Optou-se por avaliar a lipase comercial microbiana Lipolase 100L, por se tratar de uma enzima disponível comercialmente e também utilizada no tratamento de efluentes industriais com alto teor de gordura. Essa enzima, utilizada na fabricação de detergentes, se destaca pela sua grande especificidade em hidrolisar gorduras, além da sua capacidade de ser utilizada em larga faixa de pH e temperatura.
- (iv) A escolha da papaína crua (obtida do látex de *Carica papaya*) baseou-se nas vantagens potenciais apontadas pela literatura, na hidrólise de triglicerídeos e peptídeos em função de apresentar um complexo enzimático com propriedades lipolíticas e proteolíticas, o que pode representar uma vantagem sobre a enzima comercial (Lipolase), que é específica para a hidrólise de lipídeos. Além disso, esta enzima possui menor custo quando comparado às enzimas microbianas comerciais, em função do processo de obtenção ser

mais simplificado, sem a necessidade de purificação. Ademais, pesquisas referentes à aplicação da papaína no tratamento de efluentes são escassas.

### **3.2.2 Cenário 2: remoção, tratamento e valoração do subproduto espuma**

- (i) Estudos mostram que a remoção hidrostática da espuma presente no interior de separadores trifásicos de reatores UASB tem sido uma alternativa eficiente e promissora para o controle desse material. Entretanto, para o aprofundamento da questão ainda são necessários estudos complementares que comprovem a eficiência deste dispositivo, sobretudo em relação ao estabelecimento de um protocolo adequado de descarte que garanta o controle da acumulação de espuma no interior de separadores trifásicos de reatores UASB tratando esgoto doméstico.
- (ii) Complementarmente à remoção da espuma do interior do reator, existe a necessidade de se apontar alternativas para o gerenciamento desse material, pós-descarte, uma vez que são recorrentes os problemas de processamento e de destinação final da espuma. Nesse sentido, uma alternativa que pode se mostrar promissora seria a adoção de um sistema de peneiramento (destinado à separação da fração grosseira da espuma) e de desidratação (destinado à separação da fração líquida). Esse sistema pode conferir novas possibilidades para o gerenciamento da espuma, a exemplo da redução dos custos de disposição final (devido à redução substancial do volume) e do aproveitamento energético.

## **3.3 Hipóteses de investigação**

### **Hipótese 1**

A lipase comercial Lipolase 100L possibilita o aumento da eficiência da biodegradação anaeróbia da espuma, proveniente de reatores UASB aplicados no tratamento de esgoto doméstico, propiciando incremento da eficiência de remoção de DQO e óleos e graxas da espuma, como também, a maior produção de metano.

### **Hipótese 2**

A papaína bruta apresenta desempenho equivalente ou superior ao da lipase comercial na biodegradação anaeróbia da espuma, acumulada em reatores UASB tratando esgotos domésticos, com vantagem adicional de suas propriedades lipolíticas e proteolíticas, elevando as taxas de produção de metano.

### **Hipótese 3**

O estabelecimento de um protocolo adequado de descarte da espuma utilizando um dispositivo de remoção hidrostática promove o controle efetivo de acumulação de material no interior de separadores trifásicos de reatores UASB tratando esgoto doméstico.

## Hipótese 4

A utilização de um sistema de peneiramento e de desidratação de espuma possibilita a efetiva separação da fração grosseira e uma substancial redução de volume desse material, conferindo benefícios importantes em termos de redução dos custos de disposição final e de elevação do potencial de aproveitamento energético da ETE.

### 3.4 Verificação das hipóteses

Para teste das hipóteses estabelecidas, foram definidos parâmetros de verificação e resultados esperados, conforme apresentado na Tabela 3.1, a seguir.

**Tabela 3.1-** Resumo das hipóteses, dos parâmetros de verificação e dos resultados esperados

Hipótese	Parâmetros de verificação	Resultados esperados
1 e 2 (tratamento enzimático e efeito sobre a biodegradação anaeróbia da espuma)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Testes de biodegradação anaeróbia da espuma com avaliação dos parâmetros DQO, O&amp;G e CH<sub>4</sub>.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Redução do teor de O&amp;G e DQO e aumento da produção de metano para a espuma tratada com enzima.</li><li>• Desempenho semelhante ou superior da enzima papaína crua em relação à lipase Lipolase 100L.</li></ul>
3 (estabelecimento de protocolo adequado de descarte de espuma)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Quantificação do volume de espuma antes e após o descarte em dois dos sete separadores trifásicos, para diferentes frequências de descarte.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Redução substancial do volume de espuma após a operação de descarte;</li><li>• Maiores frequências de descarte resultarão em maiores eficiências de remoção de espuma</li></ul>
4 (avaliação de sistema de peneiramento e de desidratação de espuma)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Análise físico-química da espuma: ST, STV e O&amp;G da fração de espuma sólida e O&amp;G e DQO da fração de espuma líquida;</li><li>• Análise da composição imediata, composição elementar, PCI e PCS da espuma retida na peneira e desidratada no leito.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Elevada fração de material grosseiro contido na espuma é retido na peneira;</li><li>• A espuma desidratada no leito de secagem apresenta características energéticas favoráveis;</li><li>• A fração líquida drenada no leito de secagem apresenta baixa concentração de O&amp;G e pode ser retornada para o sistema biológico de tratamento.</li></ul>

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo geral**

Avaliar diferentes cenários para o gerenciamento da espuma proveniente de estações de tratamento de esgoto operando com reatores UASB.

### **4.2 Objetivos específicos**

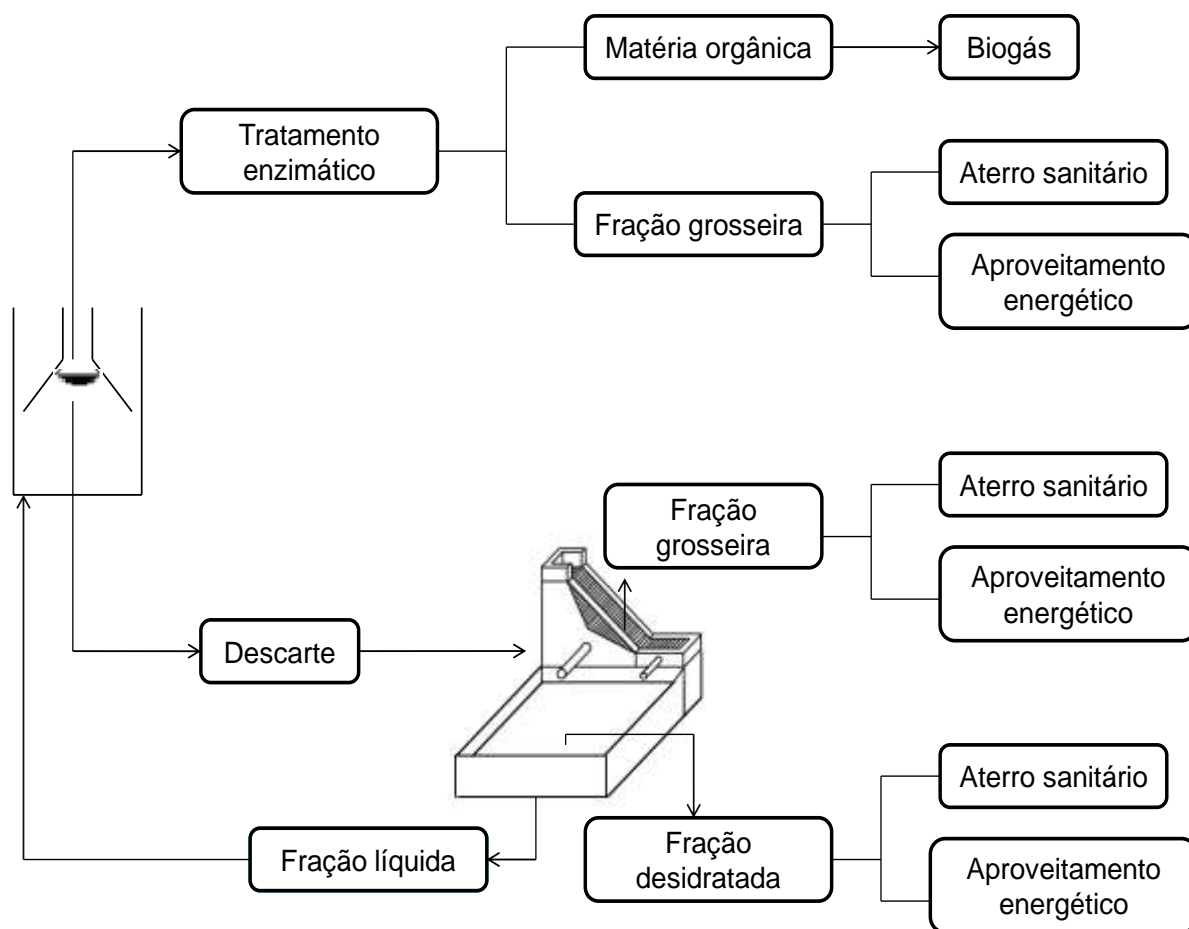
- Avaliar o efeito das enzimas Lipolase 100L e papaína crua (obtida do látex de *Carica papaya*) sobre a biodegradabilidade anaeróbia da espuma proveniente de reatores UASB tratando esgoto doméstico, com vistas ao aumento da produção de metano;
- Estabelecer protocolo de descarte de espuma em um dispositivo de remoção hidrostática, de forma a possibilitar o controle da acumulação desse material no interior de separadores trifásicos de um reator UASB operando em escala plena;
- Avaliar a eficiência de um sistema de peneiramento e de desidratação de espuma com vistas à redução dos custos de destinação final e potencial de aproveitamento energético da espuma.

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 Estruturação metodológica da tese

Para se testar as hipóteses e atender os objetivos do trabalho, de acordo com os dois cenários propostos, a metodologia da tese foi estruturada de acordo com o fluxograma mostrado na Figura 5.1, a seguir.

**Figura 5.1-** Fluxograma ilustrativo das etapas da pesquisa com indicação de possíveis flexibilidades operacionais para o gerenciamento da espuma

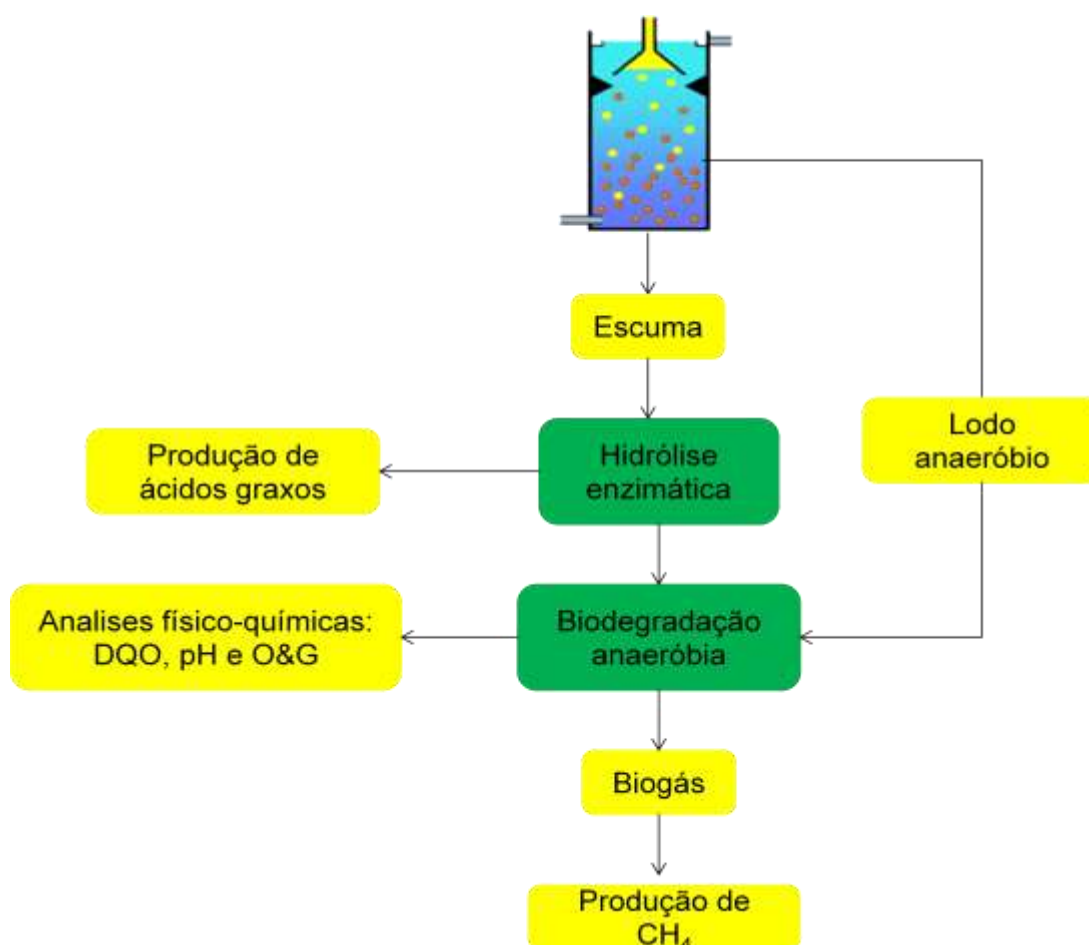


## 5.2 Cenário 1: tratamento enzimático na biodegradação anaeróbia da espuma

Para o primeiro cenário, foram realizados testes de hidrólise enzimática dos compostos lipídicos presentes na espuma proveniente de reator UASB. O efeito sobre a biodegradação anaeróbia da espuma foi avaliado comparando-se o efeito de duas enzimas: a lipase comercial microbiana Lipolase 100L e a lipase obtida do látex de *Carica papaya*, com vistas ao aumento da produção de metano. Foi utilizado também o óleo de soja como substrato controle para se verificar a ação das enzimas na hidrólise de lipídeos.

As etapas metodológicas realizadas para o atendimento dos objetivos deste cenário foram o monitoramento da produção de ácidos graxos na etapa de hidrólise, a realização de análises físico-químicas dos substratos e da mistura de substratos com biomassa, monitoramento volumétrico da produção de biogás e análise da produção de metano, para os testes de biodegradação anaeróbia, conforme pode ser observado na Figura 5.2. O detalhamento metodológico para esse cenário é apresentado no capítulo 6 da tese.

**Figura 5.2** – Fluxograma das etapas metodológicas dos testes realizados para o tratamento enzimático e biodegradação anaeróbia da espuma

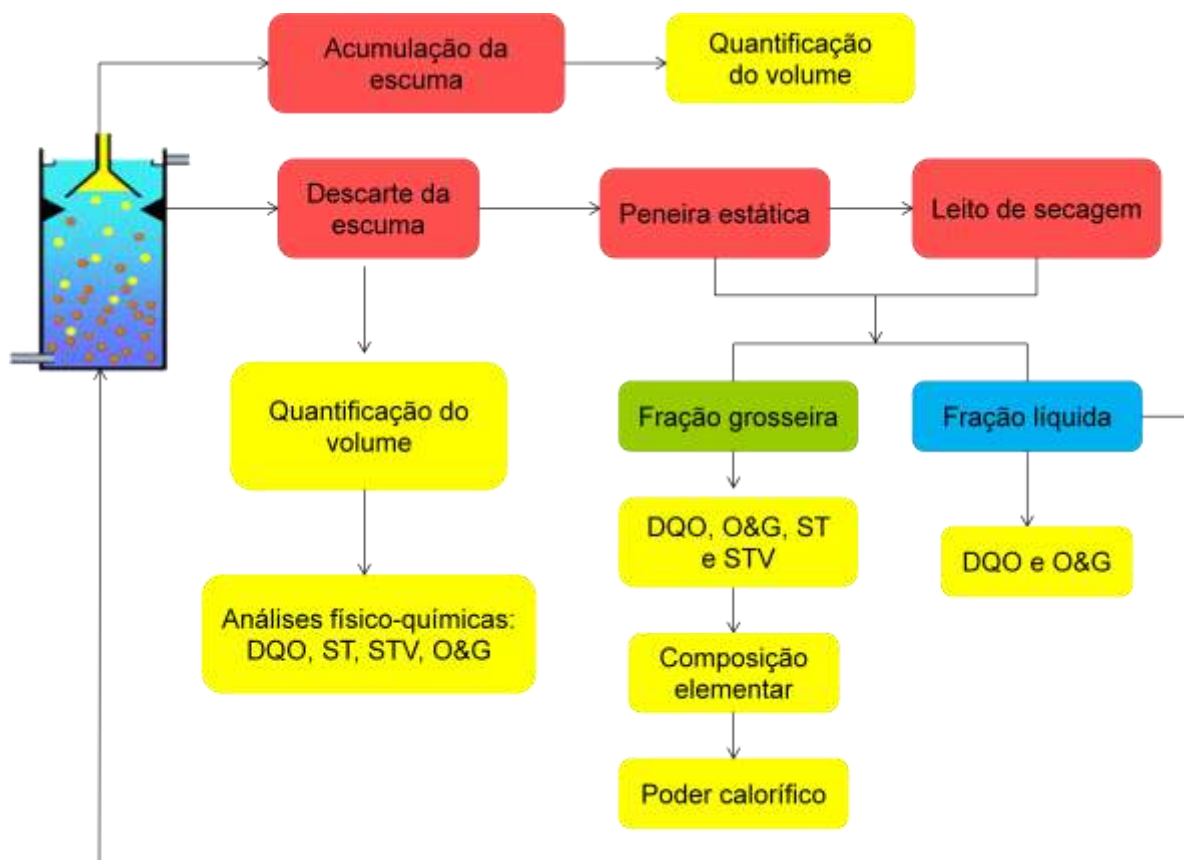


### 5.3 Cenário 2: remoção, tratamento e valoração do subproduto espuma

No segundo cenário, foi proposto um modelo de gerenciamento da espuma para estações de tratamento operando com reatores UASB, em que foi investigado o estabelecimento de uma rotina adequada de descarte da espuma do interior de separadores trifásicos, por meio de um dispositivo hidrostático de remoção. Adicionalmente, foi determinado o coeficiente de produção de espuma no interior dos separadores trifásicos dos reatores.

Como proposta de gerenciamento pós-descarte, foi avaliado o desaguamento da espuma em um sistema composto de peneira estática e leito de secagem, como alternativa de destinação final, que teve como etapas determinantes para o atendimento ao objetivo, a caracterização físico-química nas diferentes etapas operacionais do sistema. Ademais, foi avaliada a possibilidade de aproveitamento energético da fração grosseira da espuma retida na peneira estática e no leito de secagem. A Figura 6.1 ilustra o fluxograma com as etapas de avaliação do cenário. O detalhamento deste cenário é apresentado no sétimo e oitavo capítulo desta tese.

**Figura 5.3** - Fluxograma das etapas metodológicas para os testes relacionados à remoção, tratamento e valoração do subproduto espuma





## 6 AVALIAÇÃO DO EFEITO DAS ENZIMAS LIPOLASE 100L E PAPAÍNA CRUA SOBRE A BIODEGRADABILIDADE ANAERÓBIA DA ESCUMA PROVENIENTE DE REATORES UASB TRATANDO ESGOTO DOMÉSTICO

### 6.1 Introdução

Atualmente, o desenvolvimento e uso de tecnologias que visam à produção de energia representa uma prioridade de interesse mundial, principalmente em relação aos sistemas que permitam a redução do impacto ambiental a partir do aproveitamento energético de resíduos gerados em seu processo.

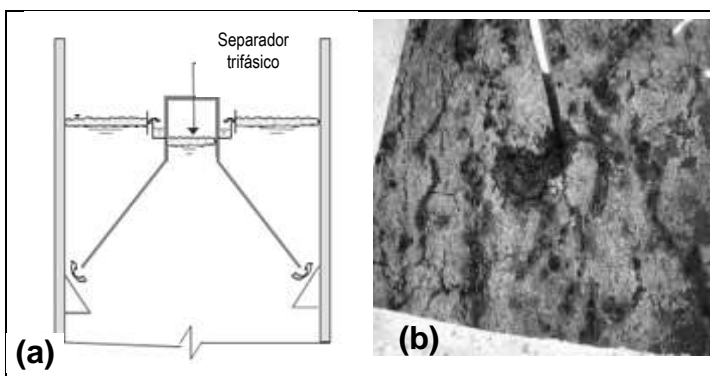
A espuma acumulada nos separadores trifásicos de reatores UASB tratando esgoto doméstico corresponde a um resíduo caracterizado por uma camada de materiais diversos com alto teor de matéria orgânica (carboidratos, proteínas e lipídeos) e de baixa densidade (SOUZA, 2006), responsável por inúmeros problemas operacionais destes reatores (PEREIRA, 2012). Dentre esses compostos presentes na espuma, os lipídeos correspondem à fração mais relevante da espuma, em função da sua baixa biodegradabilidade. Adicionalmente, a gordura presente forma um filme sobre a superfície aquática dos reatores, agregando todas as partículas em suspensão (ZAWADZKI, 2011), dando início à formação da camada de espuma (JORDÃO e PESSOA, 2005), conforme ilustrado na Figura 6.1 e os locais de acumulação são ilustrados na Figura 6.2.

**Figura 6.1:** Filme de gordura sobre a superfície aquática, formado da mistura de O&G e sólidos



Fonte: SENAI *apud* Zawadzki (2011)

**Figura 6.2:**a) Acúmulo da espuma dentro do separador trifásico de reatores UASB. b) Camada espessa de espuma



Fonte: Chernicharo *et al.* (2009)

Por outro lado, esse resíduo pode representar uma fonte de energia renovável, dada a possibilidade de geração de biogás a partir da digestão anaeróbia de seu conteúdo orgânico. O biogás é constituído principalmente por uma mistura de gás metano ( $\text{CH}_4$ ) e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), apresentando um conteúdo energético relevante, da ordem de  $6 \text{ kWh.m}^{-3}$ , para uma concentração de metano de 60% (NOYOLA *et al.*, 2006).

A digestão anaeróbia de resíduos complexos como a espuma é um processo lento, tendo como etapa limitante a hidrólise de lipídeos e a liberação de AGCL (ácidos graxos de cadeia longa), devido ao baixo consumo destes pelos micro-organismos (MASSE *et al.*, 2001). Além disso, os AGCL em concentração milimolar podem se tornar inibidores aos micro-organismos metanogênicos (OLIVEIRA *et al.*, 2011), ocasionando eventualmente a flotação da biomassa e dificultando a formação de grânulos de lodo em reatores anaeróbios de fluxo ascendente (PEREIRA, *et al.*, 2005; JEGANATHAN *et al.*, 2007).

Neste sentido, o foco de pesquisas tem se voltado para o aumento da eficiência da digestão anaeróbia através da aplicação de enzimas lipásicas no tratamento de efluentes industriais, principalmente com alto teor de lipídeos. Os resultados têm se revelado eficazes na remoção de compostos e na valorização de resíduos a partir da produção de metano (LEAL *et al.*, 2006; RIGO *et al.*, 2008; VALENTE *et al.*, 2010). As lipases (triacilglicerol acil hidrolases, E.C.3.1.1.3) compreendem um grupo de enzimas que atuam na interface orgânico-aquosa, catalisando a hidrólise de ligações éster-carboxílicas presentes em acilgliceróis (SAXENA *et al.*, 2003).

A hidrólise enzimática com lipase comercial Lipolase, obtida de *Thermomyces lanuginosa*, tem sido aplicada no tratamento do flotado obtido de efluentes de frigorífico de suínos e bovinos. Essa enzima destaca-se pela sua grande especificidade em hidrolisar gorduras, utilizadas na fabricação de detergente, além da sua capacidade em larga faixa de pH e temperatura. Os resultados revelaram que a Lipolase é adequada para a realização da pré-hidrólise de efluentes com alto teor de gordura (RIGO *et al.*, 2008).

O látex extraído do fruto verde de *Carica papaya* apresenta em sua composição uma mistura de enzimas com atividade lipolítica e proteolítica conhecida como lipase de *Carica papaya* ou papaína crua que se encontra associada à fração insolúvel em água (RIVERA *et al.*, 2014). Essa enzima apresenta como vantagem um menor custo de produção quando comparado às enzimas microbianas (CHENG e TSAI, 2007), em função do seu processo de extração ser mais simplificado. No entanto, não existem estudos referentes à aplicação da papaína no tratamento de efluentes. A literatura relata apenas um estudo realizado por Biazuz *et al.* (2006) sobre a modelagem do processo de biodegradação de efluente sintético de indústria de processamento de carnes, hidrolisado com enzimas de *Carica papaya*, em escala laboratorial. Os resultados mostraram as condições ótimas da catálise dessa enzima e a potencialidade da papaína na biodegradação anaeróbia desses efluentes proteicos sintéticos.

Dado o conhecimento sobre a problemática da espuma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de diferentes concentrações das enzimas Lipolase 100L e papaína (obtida do látex de *Carica papaya*) sobre a hidrólise de compostos presentes na espuma proveniente de reatores UASB tratando esgoto doméstico, bem como sobre a biodegradabilidade anaeróbia deste resíduo, com vistas ao aumento da produção de metano. Acredita-se que se os compostos orgânicos presentes na espuma, principalmente lipídeos,

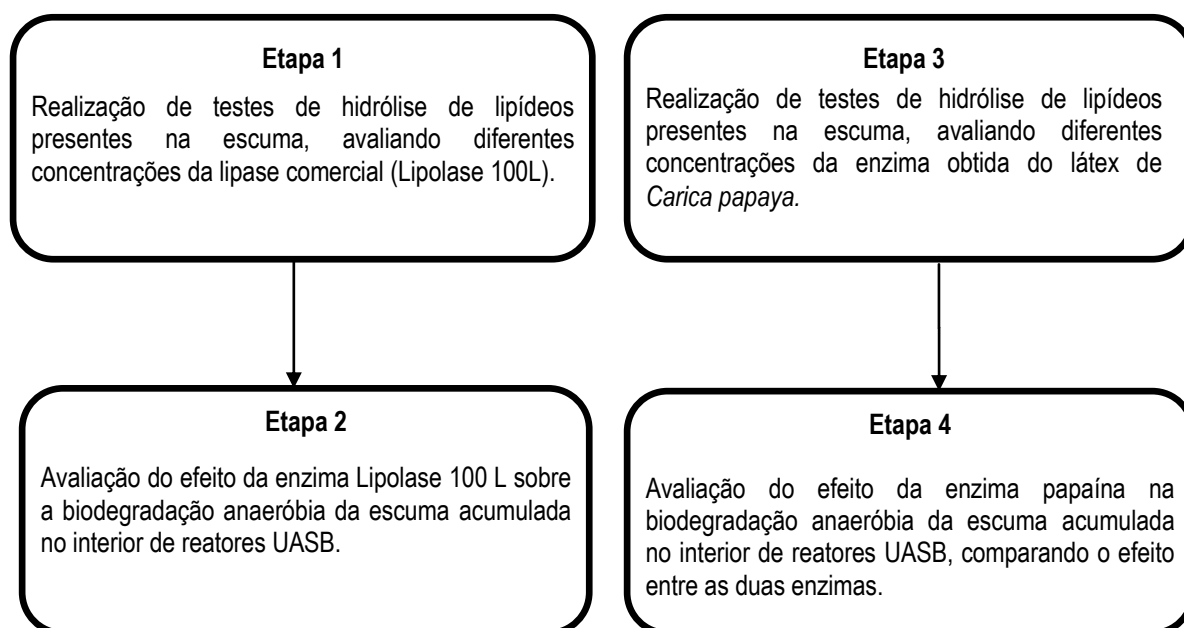
forem hidrolisados a frações menores, estas poderão ser mais facilmente digeridos pelos micro-organismos, favorecendo as etapas seguintes do processo anaeróbio.

## 6.2 Metodologia

### 6.2.1 Planejamento experimental

O planejamento experimental estabelecido para se testar as hipóteses e buscar o atendimento dos objetivos do trabalho é apresentado na Figura 6.3. Para os experimentos em escala de bancada, foram previstas quatro etapas, destinadas à realização de testes de hidrólise enzimática e de biodegradabilidade anaeróbia da espuma.

**Figura 6.3:** Fluxograma ilustrativo das etapas gerais da pesquisa



Os parâmetros de análises envolvidos nos ensaios experimentais das etapas de hidrólise e biodegradação anaeróbia da espuma são apresentados na Tabela 6.1.

**Tabela 6.1:** Resumo dos parâmetros de análises envolvidas nos ensaios experimentais em laboratório

Ensaio	Procedimentos	Análises
1	Testes preliminares de hidrólise enzimática	Produção de ácidos graxos
2	Testes de biodegradabilidade anaeróbia	DQO, O&G, pH, antes e após o teste, biogás e produção específica de CH <sub>4</sub>

## 6.2.2 Locais de realização da parte experimental do estudo

Os experimentos laboratoriais foram conduzidos nos Laboratórios de Análise Físico-química, Microbiologia e Análises Instrumentais do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais.

## 6.2.3 Obtenção das enzimas

### 6.2.3.1 Lipase microbiana

A enzima microbiana comercial (Lipolase 100 L), produzida pela Novozymes Latin America, obtida através de fermentação submersa, a partir de um organismo geneticamente modificado *Aspergillus oryzae*, foi adquirida da empresa Sigma – Aldrich Brasil Ltda.

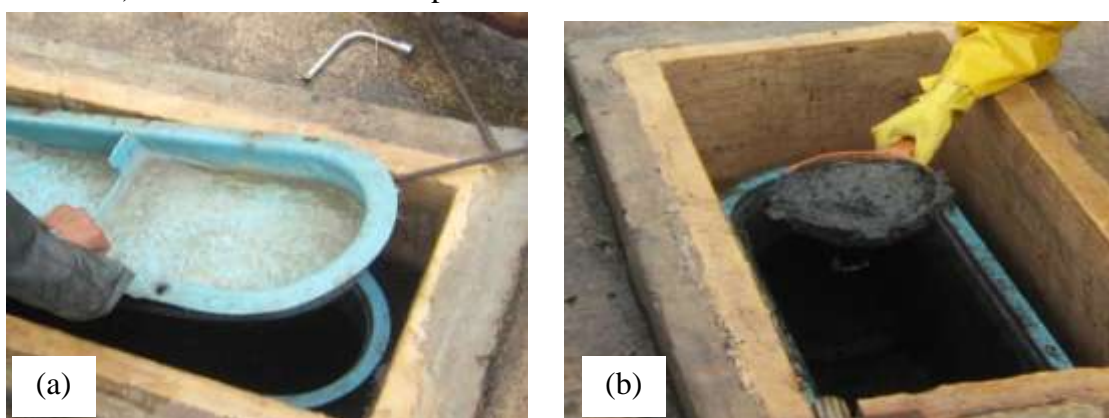
### 6.2.3.2 Lipase vegetal

A enzima crua extraída do látex do fruto verde de *Cariaca papaya* foi adquirida da empresa Sigma – Aldrich Brasil Ltda. Cabe ressaltar que para conservação da atividade lipolítica da enzima, não foi empregado nenhum processo de purificação, conforme acordo firmado com a empresa, visando à conservação das suas atividades lipolíticas. As principais propriedades e características das reações dessas enzimas fornecidas pelos fabricantes são apresentadas no Apêndice 12.1.

## 6.2.4 Obtenção da espuma, óleo de soja e lodo anaeróbio

Foi utilizada a espuma do separador trifásico, coletada em um reator UASB que se encontra em operação na ETE Laboreaux, localizada na cidade de Itabira – Minas Gerais. As amostras de espuma foram armazenadas em recipientes de vidro de 3 L e levadas ao laboratório. A Figura 6.4 ilustra o procedimento de coleta das amostras de espuma do interior de um dos separadores trifásicos.

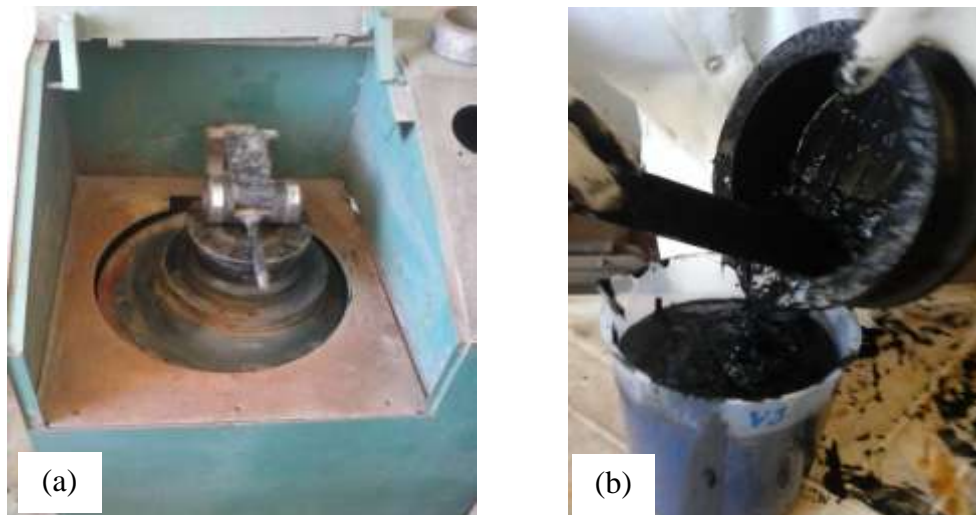
**Figura 6.4:** a) Abertura da escotilha do separador trifásico do reator UASB da ETE Laboreaux e b) Espuma coletada do separador trifásico do reator UASB da ETE Laboreaux.



Antes da realização dos testes laboratoriais, as amostras de espuma foram moídas em moinho de panelas, através do sistema pneumático de panelas, de disco vibratório R200, localizado no

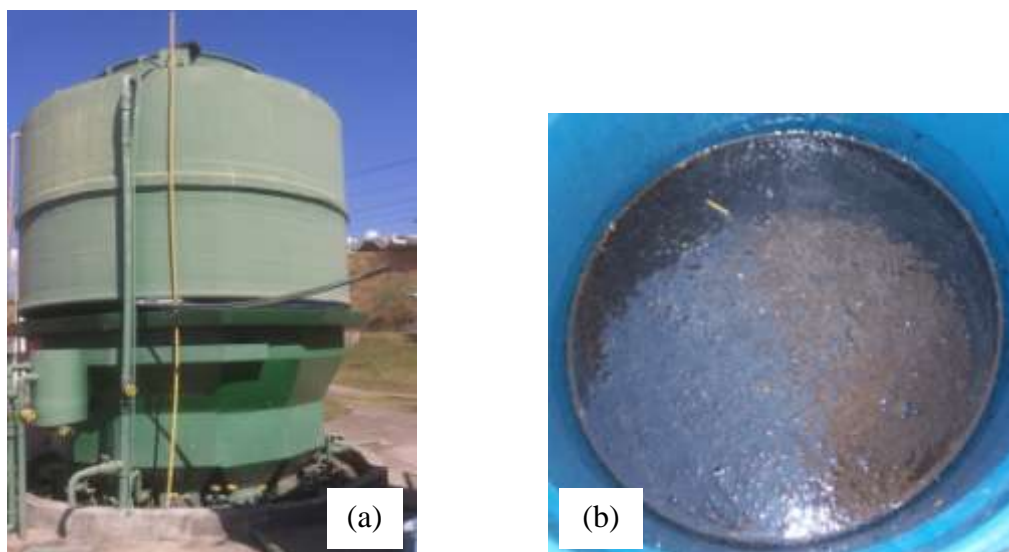
laboratório de Metalurgia da UFMG, a fim de garantir a homogeneidade do tamanho das partículas. As condições de operação para a moagem da escuma foram de volume de 250 ml, com rotação de 1200 rpm e com duração de 3 minutos. A Figura 6.5 ilustra o procedimento de moagem da escuma.

**Figura 6.5:** a) Moinho de placas vibratórias R200 e b) Escuma moída no moinho de placas



O lodo anaeróbio foi coletado de um reator UASB em escala de demonstração que se encontrava em operação no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento UFMG/COPASA (CePTS), localizado na cidade de Belo Horizonte – MG. A amostra de lodo com volume de 2,5L foram armazenadas em recipientes de vidro de 3 L e levadas ao laboratório. O reator UASB em escala de demonstração e o lodo anaeróbio coletado do reator podem ser visualizados na Figura 6.6.

**Figura 6.6:** a) Reator UASB em escala de demonstração localizado no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento UFMG/COPASA (CePTS) e b) lodo anaeróbio coletado do reator UASB para utilização como inóculo nos testes de biodegradabilidade da espuma.



As amostras de espuma trituradas e do lodo anaeróbio (inóculo) foram armazenadas em recipientes de vidro de 3L, não esterilizados, sob-refrigeração a 4 °C, na câmara fria do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFMG, até sua utilização.

As coletas de amostras foram realizadas sempre no primeiro dia da semana da montagem de cada teste. Dessa forma, foi garantida a natureza e a origem das amostras de espuma e de lodo anaeróbio, mas os dias de coleta foram diferentes, antecedendo o período de realização de cada teste.

Complementarmente aos testes de hidrólise e de biodegradabilidade da espuma, foi avaliado o efeito do tratamento enzimático sobre o óleo de soja como controle, apenas com a finalidade de verificar a ação das lipases na degradação dos lipídeos, visto que representa um óleo de uso comum em residências brasileiras, estando, portanto presente na espuma gerada no tratamento de esgotos domésticos. O óleo de soja foi obtido em um supermercado local, em que o rótulo do produto indicava a seguinte composição de ácidos: Palmítico (10,5%), Esteárico (3,2%), Oleico (22,3%), Linoleico (54,5%) e Linolênico (8,3%).

### **6.2.5 Determinação da atividade lipásica das enzimas**

A dosagem da atividade lipásica da lipase comercial (Lipolase) e da papaína foram avaliadas conforme metodologia adotada por Leal (2000). O método baseia-se na utilização de óleo de oliva como substrato e goma arábica a 7% (m/v) como agente emulsificante, em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,0. Em seguida, retirou-se 18 mL desta emulsão que foi acrescentada de 2 mL de enzima e adicionada em frascos âmbar do tipo penicilina de 30 mL, incubados em shaker a 37°C por 15 minutos, com agitação de 150 rpm. Após o período de incubação, a reação foi paralisada pela adição de 15 mL de uma mistura de acetona e etanol

(1:1 v/v). Os ensaios foram realizados em triplicata. Foram preparados os brancos reacionais, seguindo o mesmo procedimento, utilizando água destilada no lugar da enzima. Por último, foi determinada a atividade lipásica. A atividade lipásica e a concentração de ácidos liberados foram determinados por titulação usando solução de NaOH 0,1 M até pH 11.

Os óleos e gorduras contendo ácidos graxos insaturados de cadeia longa são os principais substratos das lipases, sendo o azeite de oliva o mais utilizado na dosagem de atividade lipolítica, em função da maior obtenção de ácidos graxos (MENDES *et al.*, 2005). A atividade lipásica foi calculada por meio da equação 1 (FREIRE *et al.*, 1997).

$$A = \frac{(V_a - V_b) \times M \times 1000}{t \times V_c} \quad (\text{Equação 1})$$

Na qual:

A = Atividade lipásica (U/mL);

V<sub>a</sub> = Volume de NaOH gasto na titulação da amostra (mL);

V<sub>b</sub> = Volume de NaOH gasto na titulação do branco (mL);

V<sub>c</sub> = Volume da amostra usada na reação (mL);

N = Normalidade da solução de NaOH (0,1M);

t = tempo de reação (minutos);

N = Normalidade da solução NaOH.

U/mL = uma unidade de atividade lipásica é definida como a quantidade de enzima capaz de liberar 1 μmol de ácido graxo por minuto, nas condições do ensaio.

### 6.2.6 Caracterização físico-química da espuma e lodo

A fim de se caracterizar a espuma, o lodo anaeróbio e a mistura com espuma e lodo anaeróbio (com e sem adição de enzima), foram realizados as seguintes análises físico-químicas, no início e no final dos testes: pH, sólidos totais e sólidos totais voláteis, DQO, O&G e NTK. Todas as análises foram feitas de acordo com procedimentos estabelecidos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, AWWA, WEF, 2012).

As análises de DQO e pH foram realizados no laboratório de Análise Físico-química da UFMG. As análises do teor de O&G foram realizadas pelo Laboratório Ambiental e de Alimentos AKVOS, localizado em Belo Horizonte.

### 6.2.7 Aparato experimental dos testes

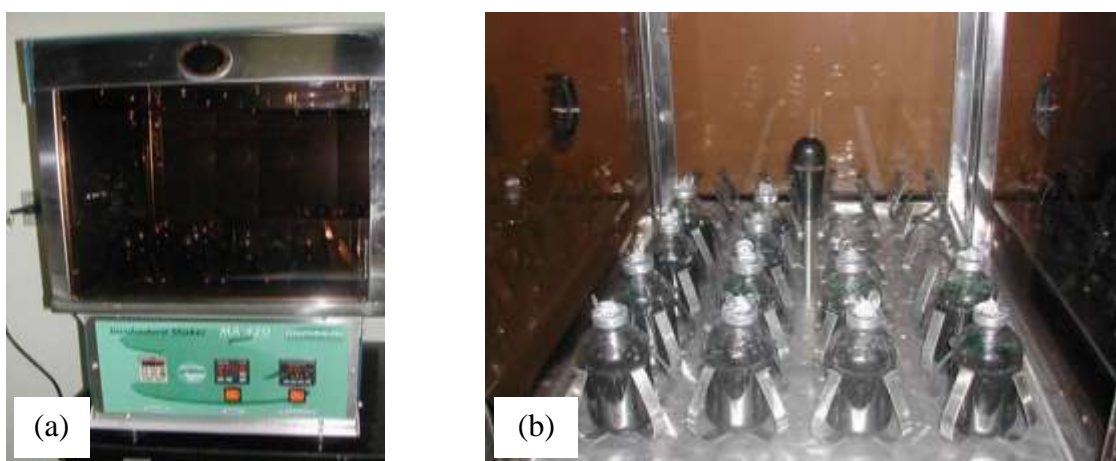
Foram utilizados frascos-reatores, de vidro, com volume total de 110 mL, em que 30% do volume foi destinado ao headspace (produção de biogás) e 70% destinado a mistura do substrato e inóculo, correspondendo a um volume útil de 77 mL. Foram realizados três testes

em triplicata para cada uma das enzimas testadas (Lipolase 100L e enzima obtida de *Carica papaya*).

Os testes foram conduzidos em incubadora shaker MA420 da marca MARCONI® (Figura 6.7) a 30 °C, com agitação orbital e contínua a 100 rpm. Essas condições foram estabelecidas buscando simular as condições mais próximas das que ocorrem em reatores UASB tratando esgoto doméstico, operando em escala real, para regiões de clima tropical. Como não se conhecia o valor de gradiente de mistura do reator UASB, ou seja, a agitação provocada pelo despreendimento de biogás (SOUZA, 2006), operando em escala real, a agitação a 100 rpm foi definida pela capacidade mínima de agitação da incubadora shaker.

A Figura 6.7 ilustra o aparato experimental utilizado na realização dos testes de hidrólise e biodegradação anaeróbia.

**Figura 6.7:** Incubadora utilizada nos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia: a) shaker e b) frascos incubados



### 6.2.8 Testes preliminares de hidrólise enzimática

O método empregado para realização dos testes de hidrólise enzimática foi descrito por Freire *et al.* (1997). A espuma, assim como o óleo de soja, foram submetidos à hidrólise com diferentes concentrações das enzimas [0; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 2,50; 5,00 (% m/v)], em triplicata, para ambas as enzimas avaliadas. As reações de hidrólise foram realizadas em frascos âmbar do tipo penicilina de 100 mL, aos quais foram adicionados 50 mL de espuma e cada concentração de enzima estabelecida. Os frascos foram fechados com tampas de borracha e levados a incubadora shaker, por um período máximo de 24 horas. A temperatura e o pH foram ajustados antes da adição da enzima. O pH do meio reacional foi ajustado para 7,0 pela adição de solução de NaOH 0,1 mol.L<sup>-1</sup>. Alíquotas de amostras (30 mL) foram coletadas nos tempos 0 e após 24 horas de teste. A reação de hidrólise foi interrompida pela adição de 30 mL da solução de acetona e etanol na proporção 1:1, e os teores de ácidos graxos determinados em titulador automático (end-point pH 11), utilizando-se NaOH 1 mol.L<sup>-1</sup> como



titulante. O teor de ácidos graxos formados foi calculado por meio da equação 2 (FREIRE *et al.*, 1997).

$$AGL = \frac{Va \times M \times 1000}{Vc} \quad (\text{Equação 2})$$

Na qual:

AL = Ácidos liberados ( $\mu \text{ mol.mL}^{-1}$ )

Va = Volume gasto de NaOH na titulação (mL);

M = Molaridade da solução de NaOH;

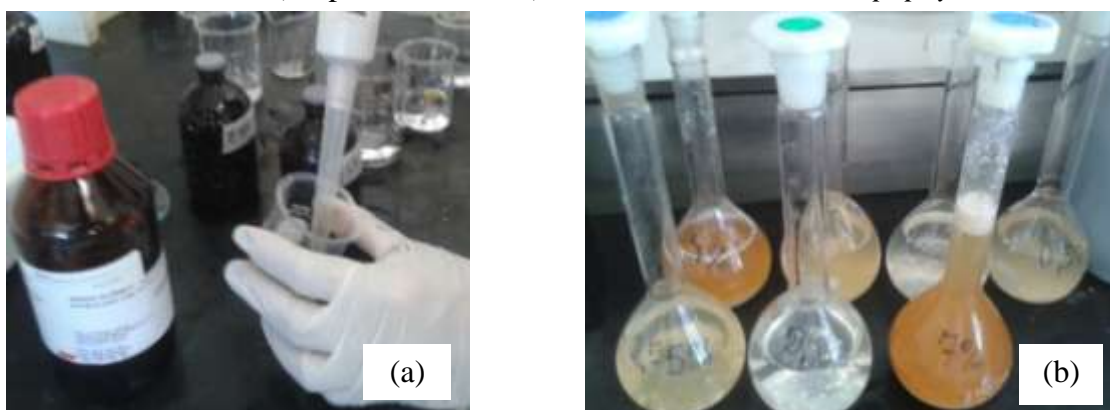
Vc= Volume da amostra (mL).

Apesar de a literatura relatar que a cinética varia quanto ao substrato, enzima e condições experimentais, a pesquisa tomou como base o monitoramento da produção ácidos livres após 24 horas de reação, tomado como base o acompanhamento cinético do processo de Leal *et al.*, (2002), em que observou uma degradação máxima atingida neste tempo.

Quanto a produção de ácidos, para a enzima purificada Lipolase 100L foram monitorados os AGL (ácidos graxos livres), pois trata-se de um enzima específica para a hidrólise de lipídeos. Quanto e para a enzima papaína bruta foram monitorados os AL (ácidos livres), pois neste caso, trata-se de uma enzima com ação lipásica e proteásica, em que pode haver produção de ácidos graxos e aminoácidos.

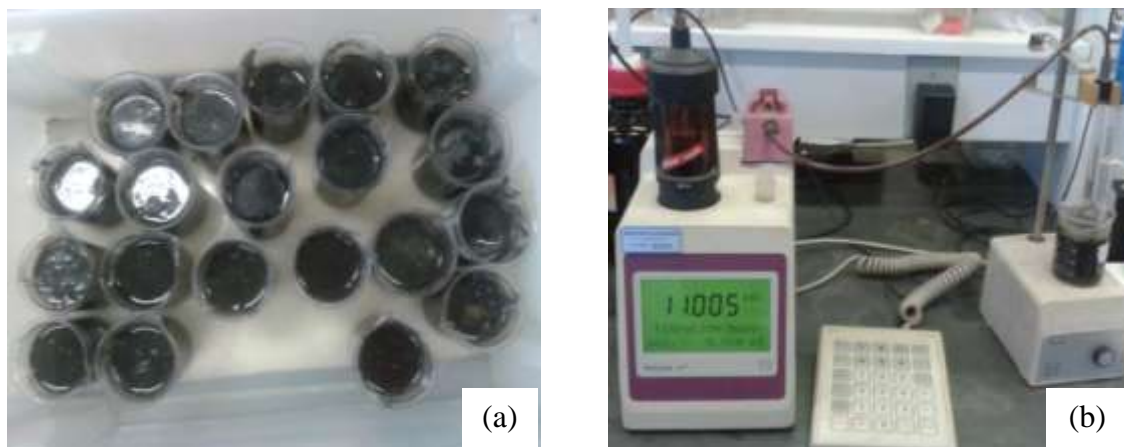
A preparação das diferentes concentrações de enzimas empregadas nos testes de hidrólise enzimática e biodegradabilidade anaeróbia, empregando as enzimas Lipolase 100L e papaína crua é ilustrada na Figura 6.8.

**Figura 6.8:** Enzimas empregadas nos testes de hidrólise e biodegradabilidade anaeróbia da escuma: a) Lipolase 100L e b) enzima obtida de *Carica papaya*



A realização da titulação das amostras para a determinação do teor de ácidos liberados na hidrólise enzimática é ilustrada na Figura 6.9.

**Figura 6.9:** Montagem dos ensaios de hidrólise enzimática da espuma por 24 horas: a) frascos e b) titulador automático



### 6.2.9 Testes de biodegradabilidade anaeróbia

Foram realizados três testes de biodegradabilidade anaeróbia da espuma para cada enzima avaliada. As concentrações de enzima utilizadas nos testes foram definidas com base nos resultados da produção média de ácidos livres no teste de hidrólise enzimática. Nos ensaios realizados, foram utilizadas solução de macro e micronutrientes, detalhados no Apêndice 12.2. Acrescenta-se ainda que cada teste foi realizado em triplicata e iniciado sempre após o encerramento do teste anterior.

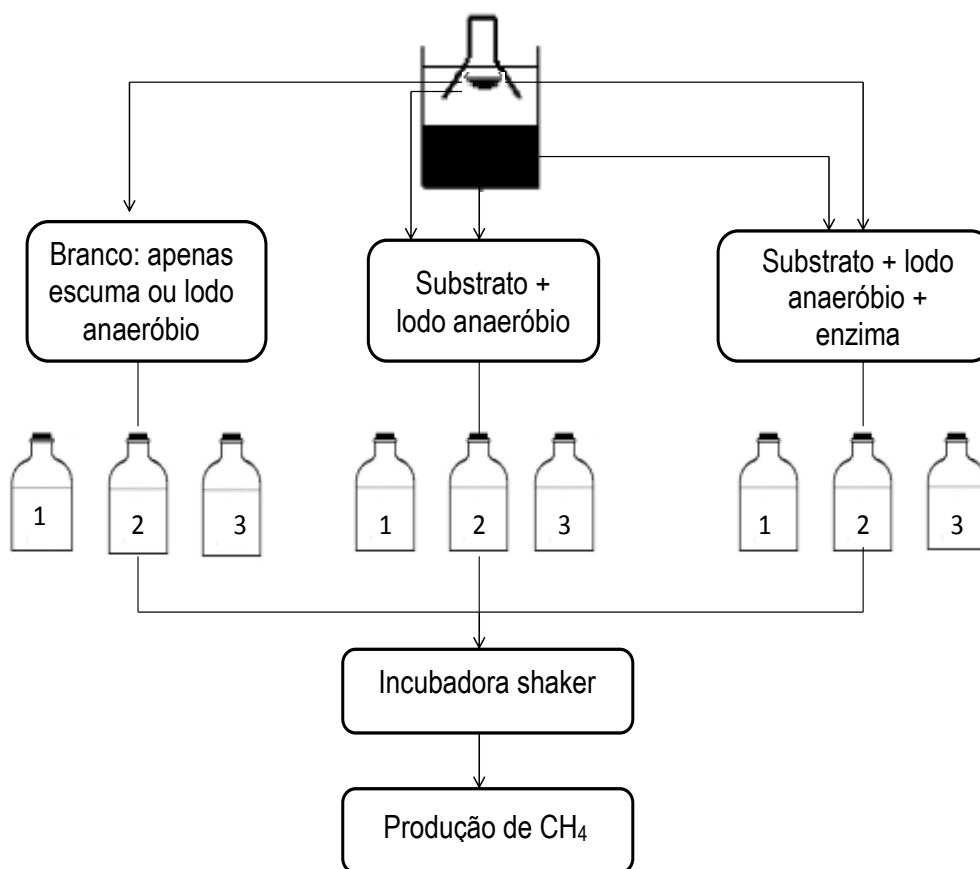
Paralelamente, foi ainda realizado um teste de biodegradabilidade anaeróbia utilizando o óleo de soja emulsificado, utilizando a goma arábica (7% m/v), com o objetivo de verificar se o agente emulsificante poderia exercer um aumento da eficiência de biodegradação e, conseqüentemente, um incremento na produção de metano. A emulsificação é importante para o processo de hidrólise enzimática, pois sua atuação necessita de dois requisitos para a operação: a formação de uma interface lipídeo/água e a absorção da enzima nesta interface. Assim, o emprego de um emulsificador permite maior interface e maior quantidade de enzima adsorvida, acarretando velocidades de hidrólise mais elevadas (MERÇON, 1995).

#### 6.2.9.1 Montagem dos testes de biodegradabilidade anaeróbia

Os testes foram conduzidos em frascos-reatores utilizando a espuma e o óleo de soja como substratos, o lodo anaeróbio como biomassa (inóculo), em que foi avaliado o efeito do tratamento enzimático e não enzimático sobre os substratos. O pH da espuma foi ajustado para  $7,0 \pm 0,2$  antes da mistura com o lodo, com a adição da solução de NaOH 0,1M. Os ensaios realizados com o lodo anaeróbio, com a espuma bruta e com a mistura espuma/ lodo anaeróbio, todos sem adição de enzima, foram tomados como controle, a fim de verificar a contribuição destes na produção de metano. Cabe ressaltar que o óleo de soja foi empregado apenas para se verificar o efeito da lipase na degradação de lipídeos emulsificados e por se tratar do óleo comumente usado na cozinha brasileira. O fluxograma mostrado na Figura 6.10

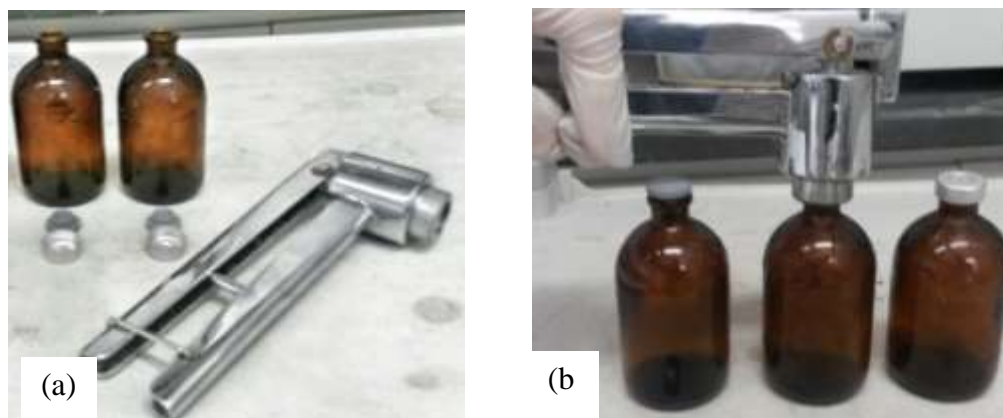
ilustra o desenho experimental dos testes de biodegradabilidade anaeróbia utilizando tanto a espuma como o óleo de soja como substratos, para as diferentes enzimas avaliadas.

**Figura 6.10:** Fluxograma do teste de biodegradabilidade anaeróbia



Cerca de 30% do volume dos frascos foi reservado para atmosfera interna (headspace), destinado ao volume de biogás produzido. O headspace foi lavado com fluxo de nitrogênio (N<sub>2</sub>), por meio da introdução de uma agulha de entrada de gás e outra de saída na tampa de borracha, por dois minutos para eliminação do oxigênio. Os frascos foram fechados com tampas de borracha e lacres de alumínio, com o auxílio de um alicate e vedados com cola de silicone. Em seguida, os frascos foram colocados em incubadora shaker, nas condições descritas no aparato experimental. A Figura 6.11 ilustra os aparatos utilizados na montagem dos frascos-reatores empregados nos testes de biodegradabilidade anaeróbia.

**Figura 6.11:** Aparatos utilizados na montagem dos frascos: a) frascos do tipo penicilina, tampa de borracha, lacre de alumínio e alicate recravador; b) vedação dos frascos



#### 6.2.10 Determinação da massa e volume de espuma, lodo anaeróbio e enzima

A quantidade de espuma e lodo utilizados em cada ensaio foi calculada para se manter uma relação de 0,25 gSTV (substrato) : gSTV (lodo anaeróbio) ou gDQO (substrato) : gSTV (lodo anaeróbio), relatada na literatura como a melhor relação entre alimento e micro-organismo (BERTOLINO e AQUINO, 2008; ELBESHBISHY, NAKHLA, HAFEZ, 2012). Quando necessário, para atingir o volume útil de 77 mL nos frascos-reatores controles (contendo apenas espuma ou lodo anaeróbio), foi completado com solução de nutrientes, a fim de se garantir o mesmo headspace no interior dos frascos-reatores.

Para todos os testes realizados, o volume do óleo de soja foi fixado baseado no volume determinado para a espuma, em função da impossibilidade de realizar análise de STV desse substrato e, desse modo, obteve-se uma maior carga orgânica de O&G quando comparado à espuma.

O volume de enzima Lipolase 100L foi calculado com base na concentração da enzima ( $1,2 \text{ g.mL}^{-1}$ ), fixando  $1 \text{ g.mL}^{-1}$  de enzima em função do volume útil dos frascos (77 mL), conforme descrito anteriormente, no item 6.2.7. Para a enzima papaína, foram preparadas soluções com 0,5; 1,0 e 5,0g da enzima diluídas em 100 mL de água deionizada. Em seguida, foi adicionado um volume de 1,0% da solução para cada frasco, com base no volume útil utilizado (77 mL). Os cálculos dos volumes das enzimas são apresentados no Apêndice 12.3.

Um resumo dos testes de biodegradabilidade com as respectivas enzimas e substratos é apresentado na Tabela 6.2.

**Tabela 6.2:** Resumo dos testes de biodegradabilidade anaeróbia e das condições avaliadas

Nº de testes	Enzimas	Concentrações de enzima (m/v)	Substratos
I	Lipolase 100L	0; 1,0 e 5,0%	Escuma Óleo de soja
II		0; 0,5; 1,0 e 5,0%	
III		0; 0,5 e 1,0 %	
IV	Látex de <i>Carica papaya</i>	0; 1,0 e 5,0%	Escuma Óleo de soja
V		0; 0,5; 1,0 e 5,0%	
VI		0 e 1,0 %	

Nota: As concentrações de enzimas foram avaliadas com base na obtenção da melhor produção de metano no primeiro teste (I e IV) e o óleo de soja apenas para verificar a ação das lipases. Cada teste foi realizado em triplicata.

As concentrações de enzima foram determinadas a partir dos testes de hidrólise enzimática, previamente realizados, conforme descrito anteriormente (no item 6.2.8). De um modo geral, foram utilizadas as concentrações que levaram às maiores produções de AGL, mas foram também testadas concentrações intermediárias e/ou mais baixas, buscando reduzir o consumo das enzimas. Os frascos controles contendo apenas o lodo anaeróbio foram avaliados somente nos últimos testes da Lipolase (III) e da papaína (VI), em triplicata para cada enzima. Os ensaios envolvendo o óleo emulsificado foram realizados nos últimos testes com a Lipolase 100L e com a papaína crua (III e VI).

A descrição geral dos frascos com respectivas legendas, concentrações e volumes das enzimas utilizadas nos testes de biodegradabilidade anaeróbia empregando a Lipolase 100L são apresentados na Tabela 6.3.

**Tabela 6.3:** Identificação dos frascos e volume de enzima para a montagem do ensaio de biodegradabilidade anaeróbia para os testes empregando a Lipolase 100L (fixando 1g de enzima por mL de mistura contendo escuma e lodo anaeróbio)

Frascos	Legenda	Enzima [E%] (m/v)	Volume de Lipolase (mL)
Frasco controle: apenas escuma	E	0	0
Frasco controle: apenas lodo anaeróbio	L	0	0
Frasco controle: com lodo + escuma	LE	0	0
Frasco com lodo + escuma + Lipolase 100L	LEL 0,5%	0,5	0,32
Frasco com lodo + escuma + Lipolase 100L	LEL 1,0%	1,0	0,64
Frasco com lodo + escuma + enzima	LEL 5,0%	5,0	3,2
Frasco controle: com lodo + óleo de soja	LO	0	0
Frasco com lodo + óleo de soja + Lipolase 100L	LOL 0,5%	0,5	0,32
Frasco com lodo + óleo de soja + Lipolase 100L	LOL 1,0%	1,0	0,64
Frasco com lodo + óleo de soja + Lipolase 100L	LOL 5,0%	5,0	3,2

Nota: Cada um dos testes foi realizado em triplicata.

A descrição geral dos frascos com respectivas legendas, concentrações e volumes das enzimas utilizadas nos testes de biodegradabilidade anaeróbia empregando a papaína crua são apresentados na Tabela 6.4.

**Tabela 6.4:** Identificação dos frascos e volume de enzima para a montagem do ensaio de biodegradabilidade anaeróbia para os testes empregando solução com papaína obtida de *Carica papaya* (fixando 1% da solução para o volume útil do frasco reator de 77mL)

Frascos	Legenda	Enzima [E%] (m/v)	Volume da solução com papaína (mL)
Frasco controle: apenas espuma	E	0	0
Frasco controle: apenas lodo anaeróbio	L	0	0
Frasco controle: com lodo + espuma	LE	0	0
Frasco com lodo + espuma + papaína crua	LEP 0,5%	0,5	0,77
Frasco com lodo + espuma + papaína crua	LEP 1,0%	1,0	0,77
Frasco com lodo + espuma + papaína crua	LEP 5,0%	5,0	0,77
Frasco controle: com lodo + óleo de soja	LO	0	0
Frasco com lodo + óleo de soja + papaína crua	LOP 0,5%	0,5	0,77
Frasco com lodo + óleo de soja + papaína crua	LOP 1,0%	1,0	0,77
Frasco com lodo + óleo de soja + papaína crua	LOP 5,0%	5,0	0,77

Nota: Cada um dos testes foi realizado em triplicata.

### 6.2.11 Testes empregando a Lipolase 100 L

A descrição da montagem dos testes de biodegradabilidade anaeróbia utilizando a Lipolase 100L com os respectivos massa e volume de espuma e lodo anaeróbio, para cada um dos testes realizados, encontram-se discriminados na Tabela 6.5 a Tabela 6.7.

**Tabela 6.5:** Massas e volumes utilizados na montagem dos frascos do teste I

Frascos	Massa (gSTV)			Volume (mL)			
	Mistura	Escuma	Lodo anaeróbio	Escuma	Óleo de soja	Lodo anaeróbio	Solução nutriente
E I	-	0,81	-	9,0	-	-	68,0
LE I	-	0,81	2,92	9,0	-	68,0	-
LEL 1,0% I	3,73	0,81	2,92	9,0	-	68,0	-
LEL 5,0% I	3,73	0,81	2,92	9,0	-	68,0	-
LO I	-	-	2,92	-	9,0	68,0	-
LOL 1,0% I	-	-	2,92	-	9,0	68,0	-
LOL 5,0% I	-	-	2,92	-	9,0	68,0	-

Nota: Para os frascos com óleo de soja foram empregados apenas o volume de óleo com base no volume de espuma, pois estes foram usados apenas como indicador.

**Tabela 6.6:** Massas e volumes utilizados na montagem dos frascos do teste II

Frascos	Massa (gSTV)			Volume (mL)			
	Mistura	Escuma	Lodo anaeróbio	Escuma	Óleo de soja	Lodo anaeróbio	Solução Nutriente
E II	-	0,72	-	9,0	-	-	68,0
LE II	-	0,72	2,50	9,0	-	68,0	-
LEL 0,5% II	3,22	0,72	2,50	9,0	-	68,0	-
LEL 1,0% II	3,22	0,72	2,50	9,0	-	68,0	-
LEL 5,0% II	3,22	0,72	2,50	9,0	-	68,0	-
LO II	-	-	2,50	-	9,0	68,0	-
LOL 0,5% II	-	-	2,50	-	9,0	68,0	-
LOL 1,0% II	-	-	2,50	-	9,0	68,0	-
LOL 5,0% II	-	-	2,50	-	9,0	68,0	-

Nota: Para os frascos com óleo de soja foram empregados apenas o volume de óleo com base no volume de escuma, pois estes foram usados apenas como indicador.

**Tabela 6.7:** Massas e volumes utilizados na montagem dos frascos do testes III

Frascos	Massa (gSTV)			Volume (mL)			
	Mistura	Escuma	Lodo anaeróbio	Escuma	Óleo de soja	Lodo anaeróbio	Solução nutriente
E III	-	0,72	-	9,0	-	-	68,0
L III	-	-	2,62	-	-	68,0	-
LE III	3,34	0,72	2,62	9,0	-	68,0	-
LEL 0,5% III	3,34	0,72	2,62	9,0	-	68,0	-
LEL 1,0% III	3,34	0,72	2,62	9,0	-	68,0	-
*LO III	-	-	2,62	-	9,0	68,0	-
*LOL 0,5% III	-	-	2,62	-	9,0	68,0	-
*LOL 1,0% III	-	-	2,62	-	9,0	68,0	-

Nota: Para os frascos com óleo de soja foram empregados apenas o volume de óleo com base no volume de escuma, pois estes foram usados apenas como indicador.\* óleo de soja emulsificado com goma arábica.

### 6.2.12 Testes empregando a enzima obtida de *Carica papaya*

A descrição da massa e volume de escuma e lodo anaeróbio calculados para a relação 0,2, para os testes de biodegradabilidade anaeróbia, utilizando a papaína obtida do látex de *Carica papaya*, são apresentados na Tabela 6.8 a Tabela 6.10.

**Tabela 6.8:** Massas e volumes utilizados na montagem dos frascos do teste IV

Frascos	Massa (gSTV)			Volume (mL)			
	Mistura	Escuma	Lodo anaeróbio	Escuma	Óleo de soja	Lodo anaeróbio	Solução Nutriente
E IV	-	0,75	-	7,0	-	-	70,0
LE IV	3,41	0,75	2,66	7,0	-	70,0	-
LEP 1% IV	3,41	0,75	2,66	7,0	-	70,0	-
LEP 5% IV	3,41	0,75	2,66	7,0	-	70,0	-
LO IV	-	-	2,66	-	7,0	70,0	-
LOP 1% IV	-	-	2,66	-	7,0	70,0	-
LOP 5% IV	-	-	2,66	-	7,0	70,0	-

Nota: Para os frascos com óleo de soja foram empregados apenas o volume de óleo com base no volume de escuma em função da impossibilidade de realizar análise de sólidos do substrato.

**Tabela 6.9:** Massas e volumes utilizados na montagem dos frascos do teste V

Frascos	Massa (gSTV)			Volume (mL)			
	Mistura	Escuma	Lodo anaeróbio	Escuma	Óleo de soja	Lodo anaeróbio	Solução Nutriente
E V	-	0,70	-	6,0	-	-	71,0
LE V	3,42	0,70	2,72	6,0	-	71,0	-
LEP 0,5% V	3,42	0,70	2,72	6,0	-	71,0	-
LEP 1,0% V	3,42	0,70	2,72	6,0	-	71,0	-
LEP 5,0% V	3,42	0,70	2,72	6,0	-	71,0	-
LO V	-	-	2,72	-	6,0	71,0	-
LOP 0,5% V	-	-	2,72	-	6,0	71,0	-
LOP 1% V	-	-	2,72	-	6,0	71,0	-
LOP 5% V	-	-	2,72	-	6,0	71,0	-

Nota: Para os frascos com óleo de soja foram empregados apenas o volume de óleo com base no volume de escuma em função da impossibilidade de realizar análise de sólidos do substrato.

**Tabela 6.10:** Massas e volumes utilizados na montagem dos frascos do teste VI

Frascos	Massa (gSTV)			Volume (mL)			
	Mistura	Escuma	Lodo anaeróbio	Escuma	Óleo de soja	Lodo anaeróbio	Solução nutriente
E VI	-	0,72	-	9,0	-	-	68,0
L VI	-	-	2,62	-	-	68,0	-
LE VI	3,34	0,72	2,62	9,0	-	68,0	-
LEP 1,0% VI	3,34	0,72	2,62	9,0	-	68,0	-
*LO VI	-	-	2,62	-	9,0	68,0	-
LOP 1,0% VI*	-	-	2,62	-	9,0	68,0	-

Nota: Para os frascos com óleo de soja foram empregados apenas o volume de óleo com base no volume de escuma, pois estes foram usados apenas como indicador. \* óleo de soja emulsificado com goma arábica.



### 6.2.13 Coleta e análise de metano presente no biogás

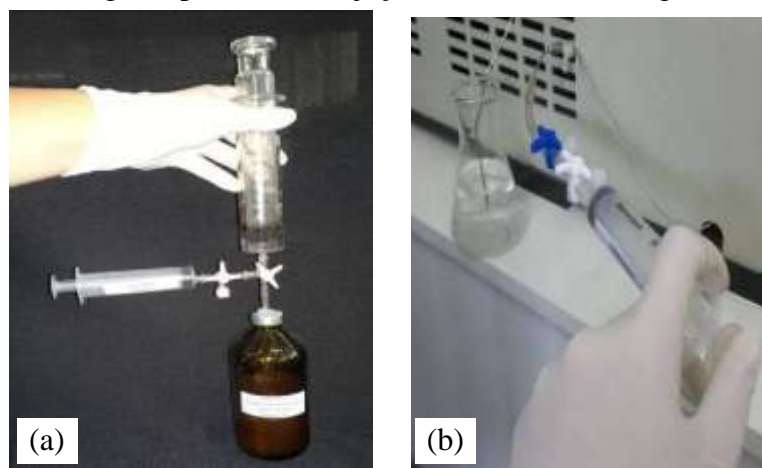
A coleta e medição do volume de biogás produzido nos frascos durante a biodegradação anaeróbia foi realizado por seringa de vidro esmerilhado, graduada de 50 mL, conectada aos frascos-reatores no momento da leitura e as amostras do volume de biogás para análise de metano em cromatografia foram coletadas com seringas plásticas de 20 mL.

Para a realização das análises de metano utilizou-se o cromatógrafo Perkin-Elmer®/Autosystem XL GC com detector de condutividade térmica (TCD - Thermal Conductivity Detector), coluna empacotada carbowax 100 da marca Supel, com dimensões de 15 FT x 1/8 inSS e gás hélio como gás de arraste. O sistema de injeção se encontrava a 170 e 180 °C. Foi utilizado hélio como gás de arraste a uma taxa de 25,0 mL.min<sup>-1</sup> e velocidade de 1,5 cm.s<sup>-1</sup>. O tempo de análise para cada amostra foi de 4,5 minutos. As análises foram realizadas durante três vezes por semana, até verificar diminuição na produção de biogás.

Em dias que não foi possível proceder a análise do biogás em cromatógrafo gasoso, foi utilizada a média do teor de metano entre o dia anterior e posterior a esta coleta. A determinação do volume de metano foi feita pela multiplicação do volume de biogás produzido pelo teor de metano médio encontrado.

A Figura 6.12 ilustra o aparato empregado na coleta de biogás produzido nos frascos biorreatores dos testes de biodegradabilidade anaeróbia e a realização da análise de metano em cromatografia gasosa.

**Figura 6.12:** Coleta de biogás e análise de metano: a) coleta de biogás com seringa de vidro acoplada com seringa de plástico, b) injeção da amostra de biogás no cromatógrafo



### 6.2.14 Análise estatística

As análises estatísticas dos resultados foram realizadas com o auxílio do programa GraphPad InStat 3.06 Demo, utilizando-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (para amostras independentes), visando a comparação dos resultados obtidos nos diferentes testes e frascos-reatores, com um nível de significância de 5% ( $P > 0,05$ ).

## 6.3 Resultados e discussão

### 6.3.1 Caracterização físico-química da espuma e do lodo anaeróbio

A caracterização da espuma e lodo anaeróbio, para os ensaios de biodegradabilidade anaeróbia (testes I e II), são apresentados na Tabela 6.11. Os valores de STV encontrados estão dentro das faixas reportadas por Souza (2006) e Pereira (2012).

**Tabela 6.11:** Caracterização físico-química (pH e série sólidos) da espuma e do lodo anaeróbio (inóculo) utilizados nos testes de biodegradabilidade anaeróbia da espuma

Testes	Amostras	pH	Sólidos Totais (g.L <sup>-1</sup> )	Sólidos Voláteis (g.L <sup>-1</sup> )	Sólidos Fixos (g.L <sup>-1</sup> )
I	Escuma	5,8	129,55	90,11	39,44
	Lodo anaeróbio	7,2	54,70	37,90	16,80
II	Escuma	5,4	145,23	100,81	44,42
	Lodo anaeróbio	7,0	55,57	36,70	19,00
III e VI	Escuma	5,8	114,20	80,00	34,42
	Lodo anaeróbio	7,1	53,39	36,60	17,30
IV	Escuma	5,6	249,3	197,3	52,00
	Lodo anaeróbio	7,2	56,70	38,00	18,70
V	Escuma	5,8	156,29	106,00	50,29
	Lodo anaeróbio	7,1	45,30	31,30	14,00
Média	Escuma	5,7	158,91	114,78	44,11
	Lodo anaeróbio	7,2	53,13	36,10	17,16
Desvio padrão	Escuma	0,18	52,97	47,17	7,35
	Lodo anaeróbio	0,08	4,54	2,76	1,99

### 6.3.2 Propriedades catalíticas das enzimas

Os valores obtidos na medida de atividade lipásica para as enzimas Lipolase 100L e papaína, para as condições avaliadas com base nos parâmetros operacionais do reator UASB (pH 7,0 e 30°C), foram de 120 U.mL<sup>-1</sup> e 43 U.mL<sup>-1</sup>, respectivamente, utilizando 2 mL dos preparados enzimáticos em tampão fosfato de sódio 100 mM. Este resultado indica que, em condições padrão, a enzima comercial Lipolase 100L é mais ativa e concentrada que a papaína crua (não purificada). A baixa atividade enzimática da papaína pode estar relacionada com o pH avaliado, que apresenta maior atividade em pH alcalino (RIVERA *et al.*, 2014).

A diferença observada nas atividades enzimáticas pode ser explicada pelo fato de a papaína crua ter sido utilizada na forma bruta, ou não purificada, apresentando, portanto, menor eficiência enzimática que as enzimas purificadas, como no caso da Lipolase 100L (RIGONI *et al.*, 2003). Todavia, a atividade lipásica para a papaína semi purificada encontrada por Abdelkafi *et al.* (2011) foi 256 ± 8 U.mL<sup>-1</sup>, em pH 9,0 e 35°C, também utilizando azeite de

oliva como substrato. Adicionalmente, conforme destacado por Caro *et al.*, 2000; I-Son e Tsai (2006), a diferença entre os valores de atividade lipásica na papaína pode ser atribuído às diferentes variedades de plantas em que fora extraído o látex contendo a enzima, a localização geográfica e o processo de obtenção.

### 6.3.3 Efeito da concentração da enzima sobre a produção de ácidos graxos

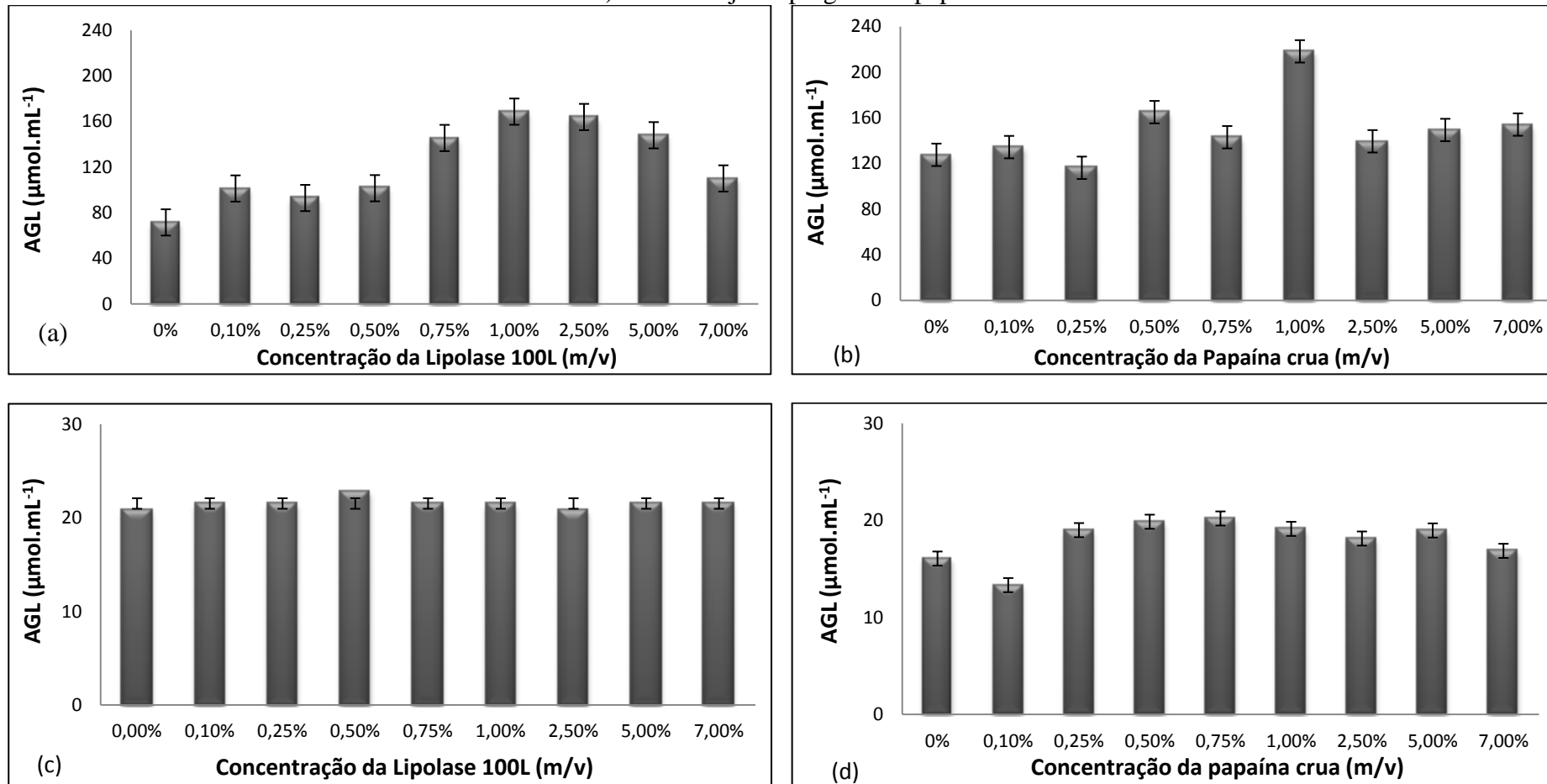
A hidrólise enzimática consistiu na utilização de lipases hidrolíticas para modificação de lipídeos encontrados na espuma. Os dados experimentais obtidos na degradação enzimática dos lipídeos presentes na espuma, empregando diferentes concentrações (0, 0,10, 0,25, 0,50, 0,75, 1,0, 2,5 e 5,0% m/v) das enzimas Lipolase 100L e papaína crua, nas mesmas condições experimentais, são apresentados na Figura 6.13.

A partir dos resultados apresentados na Figura 6.13 foi possível extrair os seguintes comentários:

- Os resultados ilustrados na Figura 6.13-a permitem visualizar que as maiores conversões de AGL (ácidos graxos livres) foram obtidas com as concentrações da enzima Lipolase 100L (líquida) na faixa entre 0,75 e 5% (m/v), com destaque para as concentrações 1,0 e 2,5%, que apresentaram produções de AGL da ordem de  $180 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ . Esses resultados representam um aumento de 2,3 vezes na produção de AGL, quando comparado ao tratamento controle (0%). Pode-se inferir que a concentração de Lipolase 100L a 1,0% seria a mais indicada, por utilizar menor quantidade de enzima, com produção de AGL semelhante à concentração a 2,5%. Esses resultados diferem dos encontrados por Rigo (2004), que obtiveram uma máxima conversão em AGL para a Lipolase 100T (sólida) com concentração a 5,0% m/v. Contudo, as quantidades dessa enzima avaliadas por estes autores foram de apenas 0,10 e 5,0% (m/v).
- Os resultados mostrados na Figura 6.13-b, relativos à utilização da papaína bruta, indicam que a maior produção de AL (ácidos livres), da ordem de  $220 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ , foi obtida para a concentração de enzima a 1,0%. Essa produção representa um incremento de 1,7 vezes em relação à produção observada para o tratamento controle (0% de enzima). As demais concentrações de enzima avaliadas apresentaram desempenho semelhante, com produções de AGL inferiores a  $170 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ .
- A comparação dos resultados de desempenho das duas enzimas mostra comportamentos semelhantes, mas com produções mais elevadas de AL tendo sido observadas para concentrações de enzima próximas a 1,0%.
- Para os testes utilizando o óleo de soja emulsificado como substrato (Figura 6.13-d), a hidrólise enzimática não apresentou efeito relevante para ambas às enzimas. Conforme se pode observar, a diferença entre os ácidos livres produzidos no experimento controle (sem

adição de enzima) e nos experimentos com o óleo de soja, contendo a enzima, não foi marcante, mesmo para as maiores concentrações de enzimas.

**Figura 6.13:** Produção de ácidos livres (mol/L) na hidrólise por 24 horas a 30°C e 100 rpm de agitação, em duplicata, para diferentes concentrações de enzima: a) da escuma empregando Lipolase 100L (fixando 1g/ml); b) escuma empregando papaína crua; c) óleo de soja empregando Lipolase 100L; e d) óleo de soja empregando a papaína crua



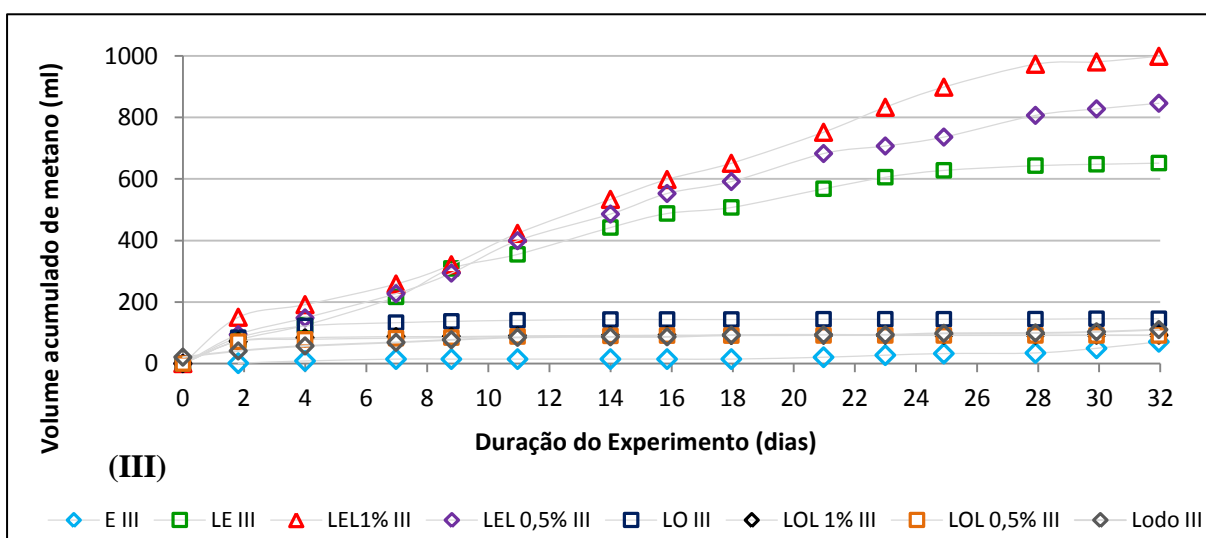
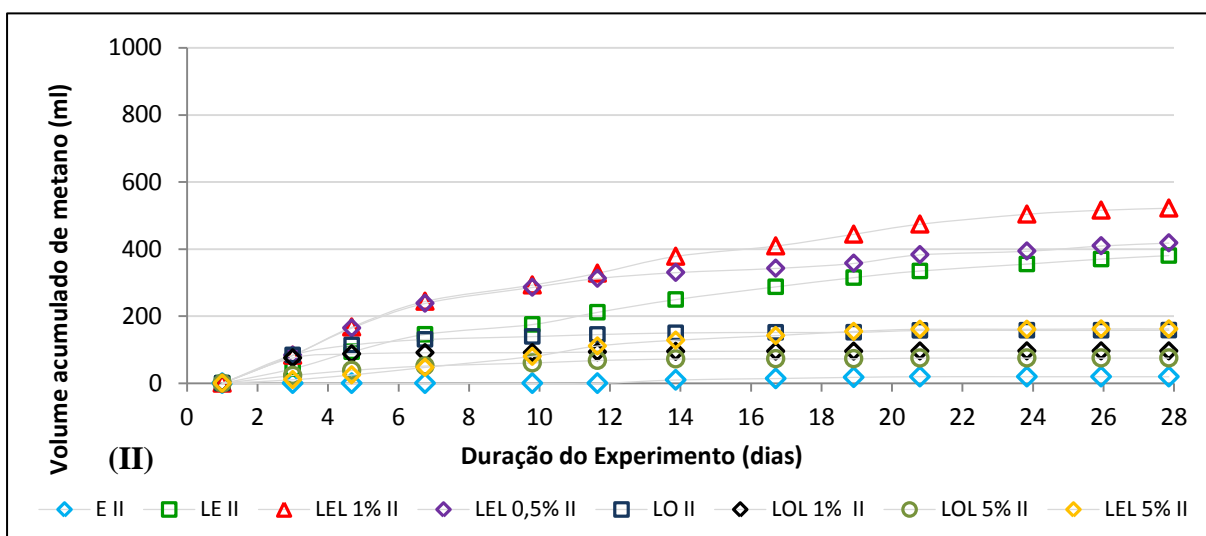
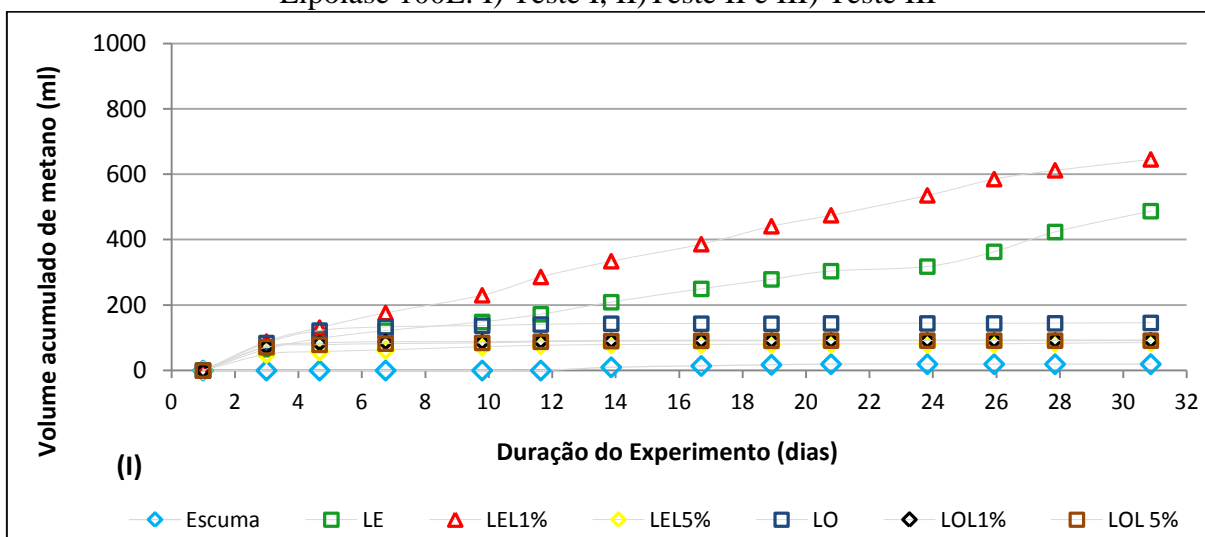
Assim, os baixos valores de ácidos graxos livres encontrados pela Lipolase 100L e dos ácidos livres produzidos pela papaína crua pode ser atribuídos à cinética considerada. Podem ter ocorrido ainda produção e consumo simultâneos pelos micro-organismos presentes no próprio efluente, utilizando os ácidos liberados na hidrólise como substrato e, dessa forma, reduziram sua concentração no meio, conforme observado por Valente *et al.* (2010) e Leal *et al.* (2002). Ademais, a baixa produção de ácidos pode está relacionada com alguma inibição das enzimas por compostos presentes no substrato (RIGO, 2004).

A partir dos resultados obtidos nesta etapa do trabalho, foram então realizados testes de biodegradabilidade anaeróbia da espuma, adotando-se as concentrações de enzimas que resultaram nos melhores rendimentos de produção de AGL. Foram também testadas concentrações intermediárias de enzimas, conforme tratado no item seguinte.

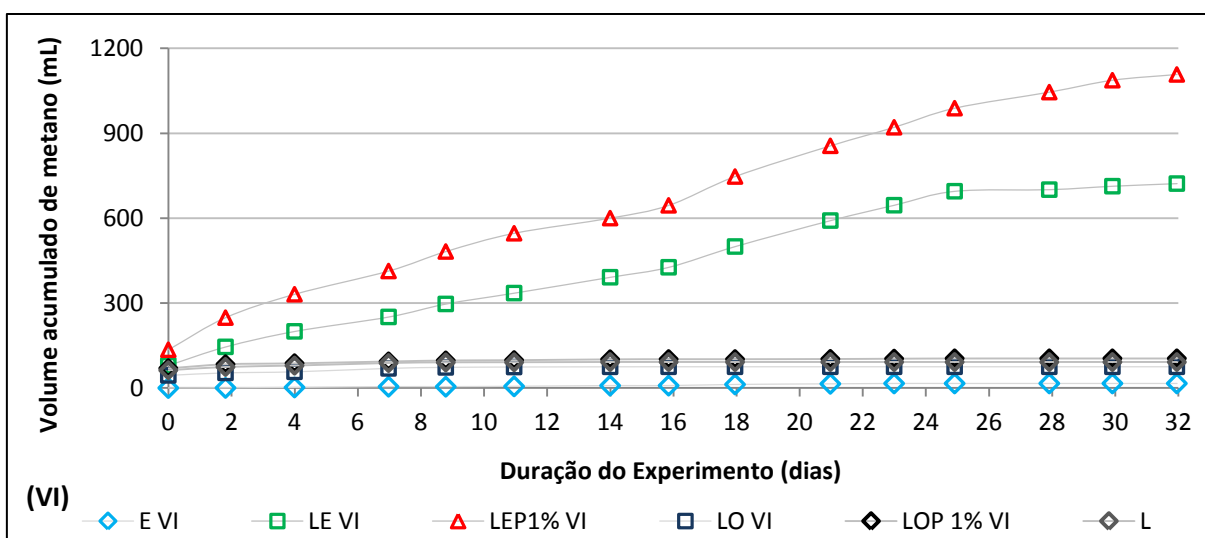
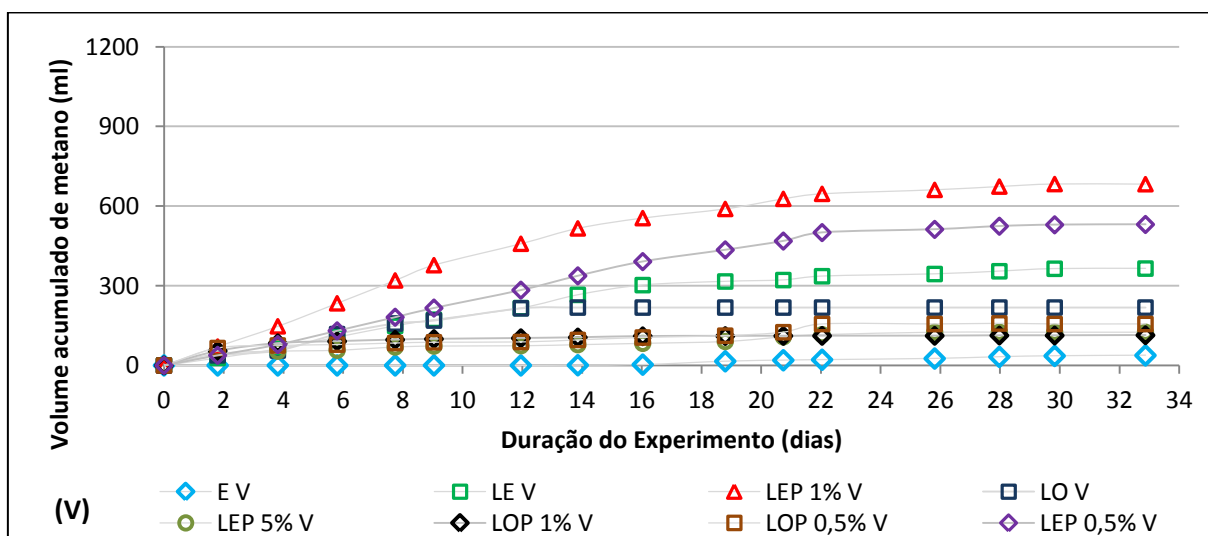
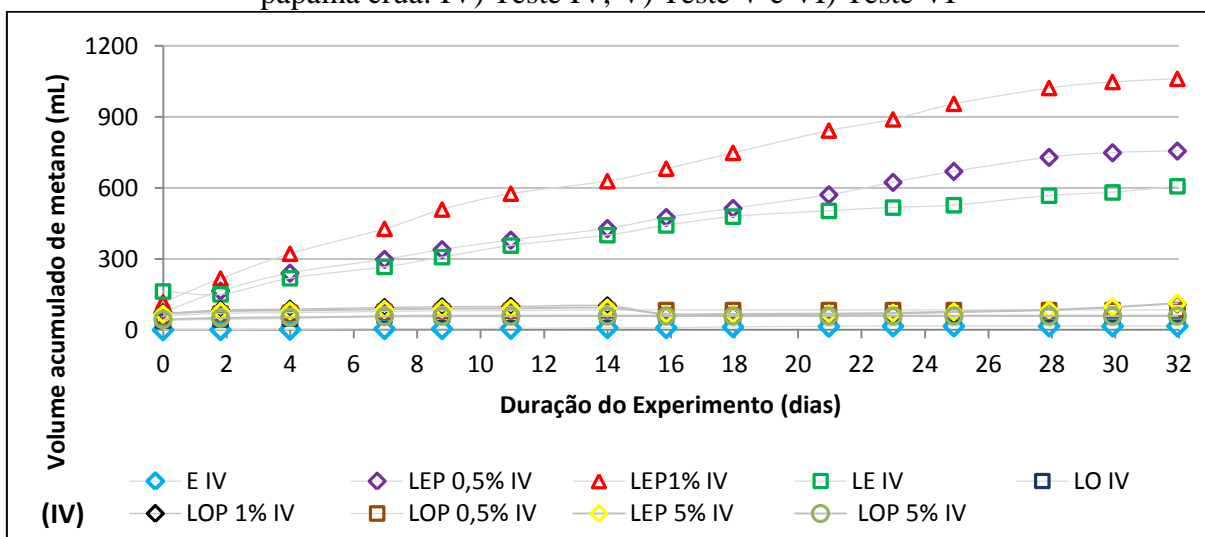
#### **6.3.4 Produção de metano nos testes de biodegradabilidade anaeróbia da espuma**

As Figuras 6.14 e 6.15 a seguir, mostram os resultados dos testes de biodegradabilidade anaeróbia da espuma, representando a média das triplicatas da produção de metano (mL) obtida nos frascos-reatores ao longo do período de incubação dos testes I, II e III (empregando a enzima comercial Lipolase 100L) e testes IV, V e VI (empregando a enzima papaína crua). Todos os testes foram realizados sob agitação de 100 rpm e temperatura controlada de 30 °C, considerando-se a relação alimento/micro-organismo de 0,2 g STV espuma/ g STV lodo anaeróbio (exceto para os frascos controle). O tempo de incubação desses testes foi de aproximadamente 32 dias. As demais condições estabelecidas para os testes são apresentadas nas Tabelas 6.3 e 6.4.

**Figura 6.14:** Produção média acumulada de metano nos frascos com escuma e óleo de soja inoculados com lodo anaeróbico, para os controles e com diferentes concentrações da enzima Lipolase 100L: I) Teste I, II) Teste II e III) Teste III



**Figura 6.15:** Produção média acumulada de metano nos frascos com espuma e óleo de soja inoculados com lodo anaeróbico, para os controles e com diferentes concentrações da enzima papaína crua: IV) Teste IV, V) Teste V e VI) Teste VI





#### 6.3.4.1 Resultados obtidos com os frascos controle

Os ensaios realizados com frascos-reactores contendo apenas lodo anaeróbio, apenas espuma e apenas lodo + espuma foram tomados como controles, a fim de verificar a contribuição destes na produção de metano, sem a adição das enzimas. Os resultados obtidos permitem os seguintes comentários:

- A produção média acumulada de metano nos frascos contendo apenas a espuma ou apenas lodo anaeróbio, para ambos os testes, foram similares, com produção não representativa de metano, obtendo-se uma produção média inferior a 120 mL de metano ao longo do tempo de incubação, com média de 30 dias de experimento.

Estas baixas produções de metano obtido nos meios reacionais dos frascos contendo apenas espuma ou apenas lodo anaeróbio já eram esperadas. Para a espuma, a baixa produção de metano deve-se à baixa biodegradabilidade dos compostos presentes neste resíduo, em especial os lipídeos. Para o controle utilizando apenas lodo anaeróbio, por se tratar de biomassa já estabilizada e retirada de reator UASB tratando esgoto doméstico, a baixa produção de metano deveu-se à pequena disponibilidade de substrato para a biomassa ativa. Os resultados do presente estudo foram similares aos reportados por Pereira (2004) e Mendes *et al.* (2005), que também obtiveram baixas produções de metano nos frascos controle.

- A produção de metano nos frascos contendo a mistura da espuma + lodo anaeróbio foi elevada em todos os testes realizados (testes I a VI), confirmando os resultados de estudos anteriores do grupo de pesquisa da UFMG (SOUZA, 2006; PEREIRA, 2012). Apesar de toda a complexidade e heterogeneidade da espuma, este resíduo é passível de ser biodegradada pelo consórcio microbiano contido no lodo anaeróbio.

#### 6.3.4.2 Produção de metano a partir do tratamento enzimático do óleo de soja

- Para o frasco controle (LO) foi observada uma baixa produção média acumulada de metano, da ordem de 135 mL, o que demonstra a dificuldade dos micro-organismos em biodegradar compostos ricos em lipídeos.
- Quando empregado o tratamento enzimático, observou-se uma redução no volume de metano produzido com a adição das diferentes enzimas, nas concentrações de 0,5, 1,0 e 5,0% (m/v). Foi observado um efeito negativo quanto ao aumento da quantidade de enzima dosada, tendo sido obtido um volume médio acumulado inferior a 120 mL de metano, tanto para a Lipolase 100L quanto para a papaína crua.

De uma maneira geral, não foram observados efeitos favoráveis na produção de metano para os tratamentos empregando o óleo de soja com e sem a adição das enzimas Lipolase 100L e papaína crua (0; 0,5; 1,0 e 5,0%), mesmo com aumento da quantidade das enzimas. De fato, este comportamento é peculiar, pois se for levada em consideração a ação da lipase em hidrolisar triglicerídeos, o desempenho das enzimas Lipolase 100L e papaína crua sobre o

óleo de soja deveriam se sobressair em relação a espuma. No entanto, a diferença nos valores de conversão em metano é clara, provavelmente por causar choques na biomassa não adaptada aos componentes da mistura.

Outra justificativa para esse baixo desempenho deve-se a ausência de nutrientes no substrato e no meio reacional, visto que consiste em um dos requisitos necessários para o crescimento e atuação dos micro-organismos presentes no lodo anaeróbio. Esses nutrientes poderiam ser adicionados nos frascos, visando simular um efluente sintético de refinaria de óleo de soja. No entanto, neste estudo, o procedimento experimental do teste de biodegradação anaeróbia seguiu-se semelhante ao da espuma, em que não foram adicionados nutrientes, exceto para a condição controle (apenas espuma).

A redução da produção de metano em relação ao emprego do óleo de soja como substrato pode estar associada ainda com as produções excessivas de AGCL em substratos com grande concentração de lipídeos, sendo que as mesmas ainda são acrescidas pela característica de lipase de promover maior disponibilidade destes componentes. Portanto, quanto maior a concentração de enzima, maior será a produção de AGCL. Estes ácidos graxos podem inibir os micro-organismos responsáveis pela biodegradabilidade do resíduo, especialmente as arqueias metanogênicas, em decorrência do abaixamento do pH (CIRNE *et al.* 2007 e GELEGENIS *et al.* 2007).

Ao mesmo tempo, esse efeito negativo pode ser justificado pela desativação da lipase por compostos presentes no substrato (PEREIRA *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.* 2011). Cirne *et al.* (2007) acrescentam que o óleo de soja apresenta uma maior proporção de ácidos linoleico e oleico em sua composição, sendo que este último mostrou-se inibidor aos micro-organismos metanogênicos.

Contudo, os resultados encontrados na literatura mostram consideráveis variações sobre os desempenhos. Não foram observados acréscimos na produção de biogás (metano) pela hidrólise enzimática de óleo, mesmo quando adicionada maior quantidade de lipase (5,0%) (ACHARYA e KURIAN, 2006 e RODRIGUES *et al.*, 2014). Park *et al.* (1989) estudaram a hidrólise de óleo de soja com diferentes tipos de lipase, onde o principal objetivo era comparar as atividades das enzimas em sistemas isolados e em sistemas combinados com dois tipos diferentes de lipases. Após 10h de reação, os autores verificaram que os sistemas de lipases combinadas (98,0 e 99,5% de hidrólise) demonstraram-se superiores aos sistemas com apenas uma lipase (7,2 e 44,4% de hidrólise). Em ensaio realizado por Gelegenis *et al.* (2007), os autores observaram um acréscimo de 10% na produção de biogás em relação ao efluente bruto, através da codigestão. Produções significativas de metano foram obtidas por Lansing *et al.* (2010) com a codigestão de dejetos suínos e gordura de cozinha.

Assim, para a avaliação da biodegradabilidade do substrato em questão, pode ser necessária uma adaptação prévia do lodo anaeróbio a ser utilizado em termos de gordura e extrato

enzimático, a fim de evitar problemas de choques na biomassa, conforme sugerido por Alves *et al.*, (2001).

- Para o emprego do óleo emulsificado, conforme utilizado nos testes III e VI (resultados mostrados nas Figuras 6.14 e 6.15), utilizando-se as enzimas Lipolase 100L e papaína crua, não foram verificadas diferenças na produção de metano em relação aos demais óleos (óleo de soja hidrolisado e não hidrolisado, bem como o óleo emulsificado).

Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Pereira (2004), que analisaram a biodegradação anaeróbia de efluente rico em gordura (emulsificado e não emulsificado) catalisado por diferentes lipases comerciais, denominadas LCR e LKM. Não foi verificada diferença na produção de metano empregando efluente hidrolisado e emulsificado. Pelo contrário, foi observada uma redução na produção de metano, em aproximadamente 11%. Mendes *et al.* (2006) observaram que a formação de ácidos graxos foi favorecida para efluentes emulsificados com goma arábica (3% m/v), com pH ajustado com solução NaOH 1M, porém não foi avaliado o efeito sobre a biodegradação anaeróbia do efluente.

#### 6.3.4.3 Efeito da enzima Lipolase 100L sobre a biodegradação anaeróbia da espuma

Foram avaliadas as concentrações de 0,5; 1,0 e 5,0% (m/v) da enzima Lipolase 100L, sendo que o desempenho desta enzima sobre a degradação da espuma são apresentados na Figura 6.14(I), (II) e (III). Os resultados revelaram os seguintes desempenhos:

- A concentração de Lipolase 100L a 0,5% avaliada nos testes II e III, apresentaram volumes acumulados de metano de 418 e 846 mL, para 28 e 32 dias de incubação, respectivamente. O volume médio acumulado de metano nestes dois testes foi de 632 mL, contra 504 mL, em média, obtido nos frascos controles contendo espuma + lodo, utilizados nesses mesmos testes. Esses resultados indicam um incremento de 15% na produção de metano, decorrente da utilização da enzima Lipolase 100 L a 0,5%.
- Os frascos-reatores que utilizaram enzima Lipolase 100L a 1,0% (testes I, II e III) apresentaram volumes acumulados de metano de 638, 526 e 998 mL, respectivamente, resultando em um volume médio acumulado de metano, para esses três testes, de 720 mL, contra 504 mL, em média, obtido nos frascos controles contendo espuma + lodo. Esses resultados indicam um incremento de 43% na produção de metano, decorrente da utilização da enzima Lipolase 100L a 1,0%, e de 18% em relação ao volume de metano produzido com a adição de enzima a 0,5%.
- A utilização da enzima Lipolase 100L a 5,0% de concentração (testes I e II) não se mostrou vantajosa, tendo em vista as baixas produções de metano obtidas nessa condição, da ordem de 104 mL, em média. Em função do baixo rendimento para esta concentração, não houve a necessidade de realização do terceiro teste.

#### 6.3.4.4 Efeito da enzima papaína crua sobre a biodegradação anaeróbia da espuma

Assim como nos testes com a enzima Lipolase 100L, foram avaliadas as concentrações de 0,5; 1,0 e 5,0% (m/v) da enzima papaína crua sobre a degradação da espuma, conforme resultados apresentados na Figura 6.15 (IV), (V) e (VI). Os resultados desses testes revelaram os seguintes desempenhos:

- A concentração de papaína crua a 0,5% foi avaliada nos testes IV e V, que apresentaram, respectivamente, volumes acumulados de metano de 756 e 531 mL ao término do período de incubação. O volume médio acumulado de metano nestes dois testes foi de 644 mL, contra 564 mL, em média, obtido nos frascos controles contendo espuma + lodo, utilizados nesses mesmos testes. Esses resultados indicam um incremento da ordem de 14% na produção de metano, decorrente da utilização da enzima papaína bruta a 0,5%.
- Os frascos-reatores que utilizaram enzima papaína crua a 1,0% (testes IV, V e VI) apresentaram volumes acumulados de metano de 1062, 682 e 1108 mL, respectivamente, resultando em um volume médio acumulado de metano, para esses três testes, de 950 mL, contra 564 mL, em média, obtido nos frascos controles contendo espuma + lodo. Esses resultados indicam um incremento de 68% na produção de metano, decorrente da utilização da enzima papaína crua a 1,0%, e de 47% em relação ao volume de metano produzido com a adição desta enzima a 0,5%.
- Novamente, a menor produção de metano foi observada para a concentração de enzima a 5,0% (teste IV e V), que apresentou volume médio acumulado de metano de 137 mL.

#### 6.3.4.5 Comparação do desempenho das enzimas

A Tabela 6.12, a seguir, apresenta o resumo das produções de metano obtidas nos diferentes testes realizados.

**Tabela 6.12:** Resumo dos resultados de produção acumulada média de metano no conjunto de testes realizados

Teste	Enzima testada	Produção de metano nos frascos controle (mL)			Produção de metano nos frascos com Escuma + Lodo + Enzima (mL)		
		Escuma	Lodo	Escuma + Lodo	Enz 0,5%	Enz 1,0 %	Enz 5,0%
I		19	-	481	-	638	85
II	Lipolase	20	-	380	418	526	123
III		71	128	651	846	998	-
	Média	-	-	504	632	720	104
IV		16	-	607	756	1062	162
V	Papaína crua	38	-	365	531	682	112
VI		16	110	722	-	1108	-
	Média	30	119	564	644	950	137

Analisando os resultados a média da produção acumulada de metano obtido nos testes de biodegradabilidade anaeróbia empregando as enzimas Lipolase 100L e papaína crua, pelo teste estatístico Kruskal Wallis a 5% de significância, permitiram extrair tais comentários:

- O teste estatístico revelou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre o volume de metano produzido nos frascos contendo a espuma bruta (controle) e nos frascos contendo a espuma hidrolisada com a enzima papaína a concentração de 1,0% (m/v), que apresenta melhor desempenho.
- Por outro lado, a avaliação estatística de resposta do teste não evidenciou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre o desempenho do tratamento enzimático e entre as enzimas, quando comparadas as ordenações médias dentre os grupos estudados. Entretanto, o motivo desta não significância pode ser justificado pelo baixo número de observações referente à pesquisa.
- Para efeito de comparação, foi calculada a produção teórica (máxima possível) de metano, com base na concentração inicial de DQO introduzida no sistema (frasco controle contendo espuma e lodo anaeróbio, Tabela 6.13). O valor teórico estimado foi de 1.152 mL de metano (a 30°C, 1 atm), considerando-se a conversão de toda a matéria orgânica introduzida. De acordo com os dados da Tabela 6.12, verifica-se que a condição que mais se aproximou do valor teórico esperado foi a espuma hidrolisada com 1,0% de papaína crua (m/v), que apresentou uma produção com volume médio de 950 mL de metano (82% da produção teórica esperada).

De maneira geral, a variação dos valores de produção acumulada de metano pode estar associada às características físico-químicas da espuma, a qual apresenta grande

heterogeneidade de compostos em sua constituição. Entretanto, a produção acumulada de metano nos testes realizados indica que a matéria orgânica presente na espuma foi mais facilmente assimilada pelos micro-organismos após a ação das enzimas, em decorrência da hidrólise de lipídeos e ou proteínas, os quais foram convertidos com maior eficiência pelas arqueias metanogênicas a metano (MENDES *et al.*, 2006), conforme já comprovado no tratamento de efluentes industriais (MASSE *et al.*, 2003; JEGANATHAN *et al.*, 2007; VALENTE *et al.*, 2010).

O melhor desempenho da enzima papaína crua sobre a hidrólise de lipídeos presentes na espuma e seu efeito significativo na produção de metano pode ser explicado em função de esta ser utilizada na forma crua (não purificada e refinada), uma vez que esta apresenta, em sua constituição, um complexo enzimático composto de enzimas proteases e lipases, dentre outras, o que provavelmente contribuiu para o aumento da conversão de proteínas e lipídeos em metano, conforme relatado por Lima *et al.* (2001). A ação lipásica da papaína crua foi comprovada nos trabalhos de Gandhi e Mukherjee (2001) e Villeneuve (2003) e Rivera *et al.* (2014), que verificaram a afinidade da enzima para triglicerídeos de cadeia média e longa em reações de interesterificação. Entretanto, os estudos de Rivera *et al.* (2014) mostraram que a fração parcialmente purificada de látex de papaia CPL-e (sem protease e esterases) mostrou uma maior afinidade na hidrólise de triglicerídeos de cadeia longa.

Outro aspecto ainda a ser destacado é a ampla atuação das enzimas em meios adversos, com variação de pH e temperatura. Com relação à papaína, a faixa ótima de pH encontra-se em 5 e temperatura de 30 °C, para efluente sintético proteico (BUAIZ *et al.*, 2006) e pH igual a 9 com variação de temperatura entre 40 a 50°C, para a atividade lipolítica sobre triglicerídeos de cadeias longas (RIVERA *et al.*, 2014). Já para a Lipolase 100T (forma sólida), as condições ótimas são pH 11 e temperatura de 37,6°C (RIGO, 2004), condições estas bem diferentes das utilizadas no presente trabalho (pH 7 e temperatura 30 °C), tendo em vista a tentativa de aproximar as condições do teste das condições operacionais de reatores UASB tratando esgoto doméstico. Dessa forma, é provável que as condições impostas aos testes tenham contribuído para a obtenção de menores produções de metano com o uso da enzima Lipolase, e de valores mais elevados com a enzima papaína.

A análise dos resultados revelou menores produções de metano obtidas quando foram utilizadas concentrações mais elevadas (5,0%) de ambas as enzimas testadas, quando comparada às demais concentrações enzimáticas estudadas. Esses resultados indicam que, para as duas enzimas, o maior nível de enzima pode inibir a ação dos micro-organismos metanogênicos e, conseqüentemente, estabilizar a conversão de metano. Segundo Masse *et al.* (2001) a alta concentração de enzima livre no meio reacional pode causar a diminuição ou adsorção da enzima na superfície das partículas presentes no efluente, principalmente da gordura, mas esse limite varia de acordo com a característica de cada lipase.

O efeito inibitório de lipídeos é geralmente associado ao maior acúmulo de alta concentração de AGCL (VALLADÃO *et al.*, 2007), formados pela hidrólise com o aumento do nível de quantidade de enzima sobre a atividade microbiana, afetando tanto as metanogênicas acetoclásticas como as hidrogenotróficas (MASSE *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2011), o que possivelmente leva a uma estabilização na síntese de metano, contribuindo para uma baixa produção, o que reforça a proposição do efeito recalitrante dos AGCL sobre o processo de biodegradação anaeróbia, conforme explicado anteriormente, no item referente à hidrólise enzimática empregando o óleo de soja.

Alves *et al.* (2009) e Jeganathan *et al.*, (2007) explicam que a acumulação de AGCL envolve a biomassa, encapsulando-a de modo a formar uma barreira física para a biomassa e, desta forma, restringe severamente a transferência de substratos e produtos (por exemplo, liberação de biogás), induzindo a um atraso ou baixa produção de metano. Pereira *et al.* (2005) acrescenta que a inibição é um fenômeno reversível, mais relacionado com limitações físicas com a parede celular, afetando o transporte e proteção para as funções metabólicas, causadas pela adsorção. Dessa forma, as limitações de transporte podem ser responsáveis pelas fases de latência observadas, geralmente atribuídas a mecanismos de danos da parede celular.

### 6.3.5 Efeito do tratamento enzimático sobre a remoção da DQO

Outro parâmetro utilizado para avaliar o efeito do tratamento enzimático sobre a degradação anaeróbia da espuma foi à remoção de DQO. A Tabela 6.13 apresenta as concentrações médias de DQO e os respectivos desvios padrão obtidos para a espuma hidrolisada e não hidrolisada, assim como os percentuais de remoção.

**Tabela 6.13:** Valores médios, desvios padrão e eficiências de remoção da DQO da espuma com e sem a aplicação do tratamento enzimático no início e final dos testes de biodegradabilidade anaeróbia

Condição	Enzima utilizada	DQO (g.L <sup>-1</sup> )		% Remoção
		Inicial	Final	
Controle (Escuma)		30,8 ±80	23,5 ±44	23
Controle (Lodo)	-	16,5 ±4	10 ±9	39
Controle (Lodo + Escuma)		38,5 ±110	15 ±40	61
Escuma + Lodo + Enz 0,5%		49,2 ±98	22 ±19	55
Escuma + Lodo + Enz 1,0%	Lipolase 100L	77,2 ±99	28,9 ±25	62
Escuma + Lodo + Enz 5,0%		90,2 ±125	66,5 ±154	27
Escuma + Lodo + Enz 0,5%		54,9 ±25	19,6 ±33	64
Escuma + Lodo + Enz 1,0%	Papaína crua	89,7 ±21	18,1 ±31	79
Escuma + Lodo + Enz 5,0%		108,71 ±18	68,9 ±20	36

\*Diluição de 1mL de amostra (escuma, lodo e mistura) em 2000 mL de água destilada, para determinação do teor de DQO.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 6.13 podem ser extraídos os seguintes comentários:

- Conforme esperado, os resultados dos frascos-controle, contendo apenas espuma e apenas lodo, foram os que apresentaram menores eficiências de remoção de DQO, em função da baixa presença de micro-organismos na espuma ou ausência de substratos ou nutrientes no lodo anaeróbio.

A média dos valores iniciais de DQO da espuma (frasco controle) encontra-se dentro da faixa de valores reportados por Pereira (2012), em que o teor de DQO da espuma do separador trifásico observado, variou entre 17 a 104 g.L<sup>-1</sup>. Sabe-se ainda que as características da espuma pode alterar em função das variações do esgoto bruto afluente e do período de acumulação no interior do separador trifásico, o que também pode influenciar no teor de DQO.

As baixas eficiências de remoção de DQO obtidas nos frascos controle no presente trabalho mostram-se similares às reportadas por Dors (2006), que encontrou percentuais de remoção de 38 e 31%, respectivamente, para lodo anaeróbio e efluente bruto, submetidos a ensaios de biodegradabilidade.

- A adição de diferentes concentrações de enzimas resultou em alterações de composição dos efluentes no início dos testes de biodegradabilidade (aumento dos valores de DQO inicial). Quando verificado o efeito do tratamento enzimático, observou-se um incremento na remoção da DQO quando comparado ao tratamento controle (sem adição de enzima). As remoções mais elevadas de DQO da espuma foram obtidas para os tratamentos com a concentração de enzima de 1,0%, tanto para a Lipolase 100L como para a papaína crua, que apresentaram eficiências médias de remoção de 72 e 79%, respectivamente.

Os resultados obtidos no presente estudo apresentaram-se em concordância com os obtidos nos testes realizados por Mendes *et al.* (2006), em que obtiveram uma eficiência média na remoção de DQO de 78,2% para o efluente pré hidrolisado contra 40% para o efluente controle (não tratado com enzima), utilizando uma lipase obtida do pâncreas de suíno.

Eficiências mais elevadas de remoção de DQO (da ordem de 90%) foram reportadas por Cammarota *et al.* (2001) e Leal *et al.* (2002), todavia para testes realizados com diferentes tipos de efluentes industriais pré-hidrolisados com 0,2 % (m/v) de lipases produzidas pelo *Penicillium restrictum*. Para esses estudos, foram encontrados percentuais de 90% de remoção de DQO.

O desempenho de um sistema anaeróbio de tratamento de efluentes submetidos à alimentação que simulava um efluente de uma indústria de produtos lácteos foi avaliado por Rosa *et al.* (2009). Os autores observaram que a adição de efluente pré-hidrolisado com 0,1% (m/v) de preparado enzimático produzido pelo *Penicillium restrictum* resultou em uma redução de DQO de 87,3%. Um interessante aspecto observado nos estudos



envolvendo a lipase produzida pelo *Penicillium restrictum* consiste na baixa concentração do preparado enzimático utilizado, além do baixo custo de produção desta enzima desenvolvida no Laboratório de Biotecnologia Microbiana do Instituto de Química da UFRJ.

- As amostras de espuma hidrolisadas com ambas as enzimas a 5,0% mostraram baixa remoção de DQO ao final dos testes, da ordem de 27 e 36%, respectivamente, para as amostras tratadas com Lipolase e papaína crua. Esse comportamento também foi observado por Rigo *et al.* (2008), que não encontraram vantagem em termos de remoção de DQO frente ao efluente hidrolisado, obtendo valores baixos de remoção (60%) para ambos os efluentes hidrolisados (5,0% de Lipolase 100T) e não hidrolisados.

### 6.3.6 Efeito do tratamento enzimático sobre a remoção de O&G

A Tabela 6.14 apresenta os valores médios da remoção de O&G da espuma com e sem a aplicação do tratamento enzimático. Foram realizadas análises apenas para as amostras que apresentaram melhores desempenhos na produção de metano.

**Tabela 6.14:** Valores médios, desvios padrão e eficiências de remoção de O&G da espuma com e sem a aplicação do tratamento enzimático no início e final dos testes de biodegradabilidade anaeróbia

Condição	Enzima utilizada	O&G (g.L <sup>-1</sup> ) Inicial	O&G (g.L <sup>-1</sup> ) Final	% Remoção
Controle (Escuma)	-	32,72 ±7	28,01 ±6	14
Controle (Lodo + Escuma)	-	36,8 ±7	17,24 ±9	53
Escuma + Lodo + Enz 0,5%	Lipolase	36,98 ±11	15,76 ±9	57
Escuma + Lodo + Enz 1,0%		30,31 ±16	11,44 ±11	63
Escuma + Lodo + Enz 0,5%	Papaína crua	39,12 ±11	11,56 ±13	70
Escuma + Lodo + Enz 1,0%		37,83 ±19	7,58 ±8	80

A partir dos resultados apresentados na Tabela 6.14 podem ser extraídos os seguintes comentários:

- Conforme esperado, os resultados dos frascos-controle foram os que apresentaram menores eficiências de remoção de O&G, muito embora possa-se considerar satisfatória a remoção obtida nos frascos-controle contendo lodo + espuma, da ordem de 53%.
- As eficiências de remoção de O&G obtidas nos frascos que receberam adição de papaína crua a 0,5 e 1,0% (70 e 80%, respectivamente) foram bastante superiores às eficiências obtidas com a adição da enzima Lipolase 100L. Adicionalmente, estas eficiências apresentaram-se 17 a 27 pontos percentuais mais elevadas que o tratamento controle (sem adição de enzima). As maiores eficiências de remoção de O&G obtidas com o uso da enzima papaína crua corroboram os resultados dos testes de biodegradabilidade anaeróbia,

que também indicaram maiores produções de metano nos frascos-reatores tratados com esta enzima.

Esses resultados confirmam a ação das enzimas na hidrólise de lipídeos presentes na espuma, conforme observado nos estudos envolvendo efluentes industriais com alto teor de gorduras (LEAL *et al.*, 2006; RIGO *et al.*, 2008). A presença de matéria orgânica prontamente metabolizável, proporcionada pela etapa de hidrólise, diminui o acúmulo de gordura nos flocos de lodo, visto que a etapa limitante da degradação dos lipídeos pelos micro-organismos é a sua hidrólise (MENDES; PEREIRA; CASTRO, 2006).

### 6.3.7 Avaliação do pH dos frascos-reatores

Na Tabela 6.15 pode-se observar a variação do pH entre o início e o fim dos testes de biodegradabilidade.

**Tabela 6.15:** pH médio observado no início e no final dos testes de biodegradabilidade anaeróbia da espuma

Condição	Enzima utilizada	pH Inicial	pH Final
Controle (Escuma)		5,9	7,0
Controle (Lodo)	-	7,0	7,2
Controle (Lodo + Escuma)		7,0	7,4
Escuma + Lodo + Enz 0,5%		7,0	7,2
Escuma + Lodo + Enz 1,0%	Lipolase	7,1	7,2
Escuma + Lodo + Enz 5,0%		7,0	6,0
Escuma + Lodo + Enz 0,5%		7,0	7,3
Escuma + Lodo + Enz 1,0%	Papaína crua	6,9	7,4
Escuma + Lodo + Enz 5,0%		7,1	6,6

A partir dos resultados apresentados na Tabela 6.15 podem ser extraídos os seguintes comentários:

- Analisando os dados do pH, constata-se que não foi observada uma grande variação ao entre os experimentos, já que o pH manteve-se entre 6,0 e 7,4, após a finalização dos testes de biodegradabilidade anaeróbia. Esta faixa de pH relativamente neutra mostra que, após a hidrólise dos O&G, provavelmente a biomassa ativa foi capaz de consumir os ácidos formados, utilizando-os como fonte de carbono para suas funções metabólicas. É importante salientar que, neste trabalho, o pH dos frascos-reatores foi ajustado para  $7,0 \pm 0,2$ , através da solução tampão com NaOH, na etapa inicial dos testes. Notou-se ainda uma queda no pH nos testes envolvendo a concentração de 5,0% (m/v) de enzimas, que pode ser atribuída o acúmulo de AGCL ao longo do tratamento.

### **6.3.8 Análise de custos das enzimas e perspectivas de aplicação no tratamento da espuma**

O processo de tratamento enzimático para a hidrólise de efluentes tem um elevado custo, por isso busca-se o uso de enzimas com melhor relação custo/benefício, visando viabilizar economicamente o tratamento. Em uma cotação realizada em outubro de 2014, a empresa Sigma Aldrich forneceu um orçamento com o valor de R\$ 4.532,00/kg para a Lipolase 100L e R\$ 3.000,00/kg para a papaína crua.

Em termos de eficiência, as enzimas comerciais demonstraram desempenho similar para o emprego no tratamento da espuma, para as condições avaliadas. Entretanto, os resultados obtidos com a papaína crua indicaram maior produção de metano e, em termos econômicos, melhor relação custo/benefício.

As perspectivas futuras para o tratamento enzimático da espuma será aplicar a enzima dentro do separador trifásico do reator UASB ou posteriormente ao descarte. O emprego da enzima dentro do separador trifásico seria viabilizado através de bicos aspersores posicionados no interior da câmara de gás. A aplicação sugerida seria de uma vez ao dia, visto que o separador trifásico apresenta-se como uma zona estagnada, na qual a enzima seria diluída com o lodo anaeróbio, levando em consideração a ausência ou baixa presença de micro-organismos (biomassa ativa do lodo anaeróbio) na espuma. Desta forma, o contato entre substrato e biomassa seriam favorecidos e, conseqüentemente, um melhor desempenho da biodegradação anaeróbia da espuma.

Para a espuma descartada, esta poderá ser direcionada para um biodigestor anaeróbio, com vistas a maior eficiência de produção de metano, que poderá ser aumentado pelo tratamento enzimático, que apesar de ser elevado, pode ser compensado mediante a supressão da logística e custo da remoção e transporte da espuma para disposição em aterros sanitários.

## **6.4 Conclusão**

Os ensaios de tratamento enzimático realizados no presente estudo permitiram avaliar a ação das lipases na hidrólise de compostos orgânicos complexos, como os lipídeos presentes na espuma acumulada no interior de separadores trifásicos de reatores UASB aplicados ao tratamento de esgoto doméstico. Os testes de biodegradabilidade anaeróbia das amostras de espuma possibilitaram confirmar as duas hipóteses estabelecidas:

- A lipase comercial Lipolase 100L possibilitou o aumento da eficiência da biodegradação anaeróbia da espuma de reatores UASB tratando esgotos domésticos, conforme confirmado pelo incremento da produção de metano e das eficiências de remoção de DQO e de O&G. Os melhores resultados foram obtidos para a aplicação da Lipolase com a concentração de 1,0%, que mostraram incrementos de produção de metano da ordem de

36%, e eficiências de remoção de DQO e O&G de cerca de 70 e 62%, respectivamente, em comparação com os frascos-controle contendo espuma e lodo de inóculo.

- A papaína bruta apresentou desempenho superior ao da lipase Lipolase 100L na biodegradação anaeróbia da espuma, conforme confirmado pelas maiores produções de metano e maiores eficiências de remoção de DQO e de O&G. Também para a papaína, os melhores resultados foram obtidos para a concentração a 1,0%, que mostraram incrementos de produção de metano da ordem de 78%, e das eficiências de remoção de DQO e O&G de 79 e 86%, respectivamente, em comparação com os frascos-controle contendo espuma e lodo de inóculo.
- A papaína obtida do látex do fruto verde de *Carica papaya* ofereceu melhor relação custo-benefício para ser utilizada no pós-tratamento da espuma proveniente de reatores UASB aplicados ao tratamento de esgoto doméstico, além de ter apresentado uma maior eficiência na conversão de compostos orgânicos em metano.

## 7 ESTABELECIMENTO DE PROTOCOLO DE DESCARTE DE ESCUMA EM UM REATOR UASB EM ESCALA PLENA

### 7.1 Introdução

Os reatores UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) têm sido amplamente utilizados no Brasil para o tratamento do esgoto doméstico, entretanto uma grande limitação operacional é a remoção da espuma acumulada no interior dos separadores trifásicos (STF). Conforme mencionado em vários trabalhos, a operação desses reatores tem sido dificultada e até interrompida, em ocasiões eventuais, na maioria das estações de tratamento operando em escala real (HALALSHEH *et al.*, 2005; SATO *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2006; PEREIRA, 2012).

Embora os estudos descrevam a espuma como um fator limitante para a eficiência operacional dos reatores UASB, poucas pesquisas visaram o equacionamento do problema (SOUZA, 2006), possivelmente em decorrência das dificuldades associadas ao manuseio e quantificação desse material, assim como em função do local de acumulação (PEREIRA *et al.*, 2009), o que compromete a avaliação do coeficiente de produção e a comparação dos resultados disponíveis (HALALSHEH *et al.*, 2005).

A remoção periódica da espuma tem sido a alternativa mais utilizada como medida de controle. A prática geralmente consiste na desagregação da camada espessa de espuma para permitir a sucção do material por caminhão limpa-fossa. Essa prática se mostra trabalhosa e requer mão de obra para auxiliar a retirada do material, submetida a condições insalubres por um longo período de tempo, até a completa limpeza do reator, que tem como destino final o aterro sanitário (RAMOS *et al.*, 2010). Dessa forma, o foco das pesquisas tem ido ao encontro de aspectos práticos do gerenciamento de espuma em estações em escala real (CHERNICHARO *et al.*, 2009; ROSA *et al.*, 2011).

Dado o conhecimento do acúmulo de espuma no interior do separador trifásico, são previstos meios de retirada desse material na concepção de projetos de reatores UASB. Como não se sabe se a espuma apresentará características fluidas, que permitam remoção hidrostática por meio de canaletas, é recomendada a incorporação de uma alternativa que possibilite a remoção de espuma mais concentrada, como escotilhas de inspeção localizadas acima do separador trifásico e a implantação de uma rotina de descarte adequada. A presença dessas escotilhas de fechamento hermético possibilita a identificação da necessidade de remoção do material, e também a medição da espessura da camada acumulada (ROSA *et al.*, 2011).

O presente trabalho buscou avaliar diferentes frequências de remoção de espuma, visando o estabelecimento de protocolo operacional que resultasse no melhor desempenho do sistema de remoção hidrostática implantado em um reator UASB em escala plena da ETE Laboreaux - Itabira - Minas Gerais.

## 7.2 Material e métodos

### 7.2.1 Aparato experimental

Esse trabalho foi realizado na ETE *Laboreaux*, localizada na cidade de Itabira/MG, dimensionada para atendimento em fim de plano de uma população de 123.000 habitantes, com a primeira etapa, atualmente implantada, dimensionada para a população de 70.000 habitantes. A Figura 7.1 apresenta uma vista geral da ETE *Laboreaux*.

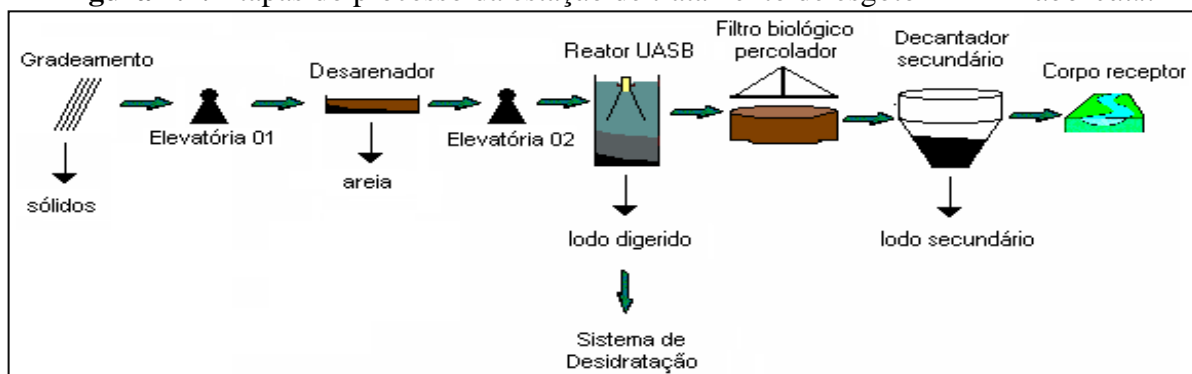
**Figura 7.1:** Vista geral das unidades da ETE *Laboreaux*



**Fonte:** Chernicharo *et al.* (2009)

A ETE *Laboreaux* apresenta fluxograma simplificado, compreendendo unidades de tratamento preliminar (gradeamento e desarenador), unidades de tratamento biológico anaeróbio e aeróbio em sequência (reator UASB, filtro biológico percolador - FBP e decantador secundário), além da unidade de desidratação de lodo (filtro-prensa). A Figura 7.2 apresenta o fluxograma das unidades da ETE *Laboreaux*.

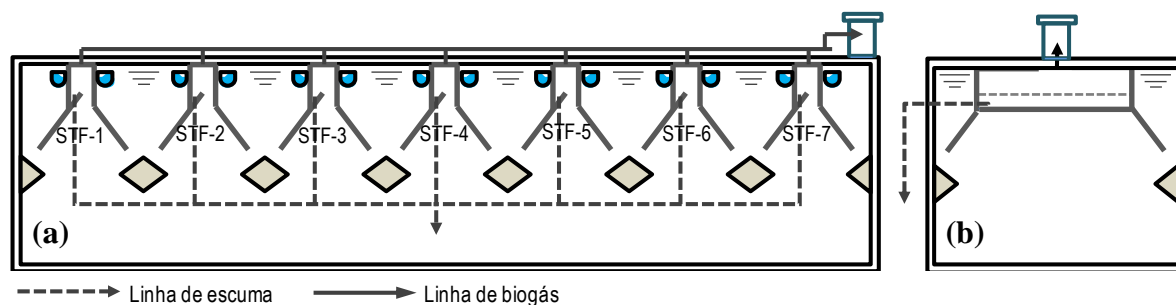
**Figura 7.2:** Etapas do processo da estação de tratamento de esgoto – ETE *Laboreaux*



**Fonte:** Manual de operação da ETE *Laboreaux*

A ETE *Laboreaux* possui oito reatores UASB, cada um equipado com sete separadores trifásicos (STF). A Figura 7.3 apresenta cortes esquemáticos que mostram a disposição e configuração dos STF, assim como a indicação da linha de descarte de espuma de um reator típico.

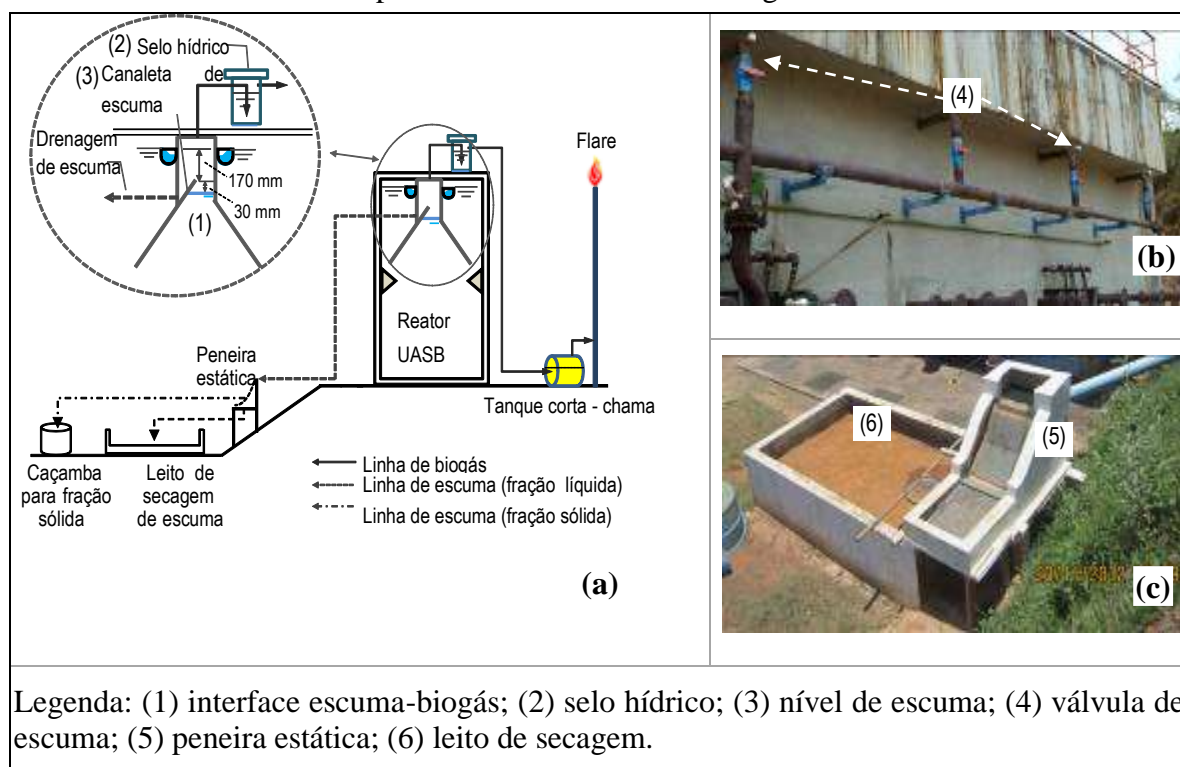
**Figura 7.3:** Esquema dos sete separadores trifásicos em um reator UASB na ETE Laboreaux: (a) Corte transversal e; (b) Corte longitudinal



Os sete STF de cada reator possuem os seus níveis de interface espuma/biogás (1- Figura 7.4 - a) em seu interior controlados simultaneamente pela pressão na linha de biogás, a qual é estabelecida por um selo hídrico (2 –Figura 7.4-a) localizado no topo de cada reator. Para efeito deste estudo, o nível da interface espuma-biogás no interior de cada um dos STF avaliados foi fixado 30 mm abaixo da canaleta coletora de espuma (3 – Figura 7.4a). Um sistema eletrônico de controle do nível de água dentro do tanque corta-chama garante a pressão na linha de gases com pressão total de 200 mm.c.a em relação ao nível de água no tanque de sedimentação e o desnível entre a canaleta de recolhimento do efluente tratado e a canaleta de remoção de espuma é igual a 170 mm, conforme descrito por ROSA *et al.* (2012).

Com esta configuração, a abertura da válvula para remoção de espuma (4 – Figura 7.4-b) localizada no exterior do reator produz um alívio de pressão no interior dos STF, permitindo que o nível de espuma se eleve e que a mesma verta do interior da canaleta coletora, sendo na sequência direcionada para um sistema de tratamento composto de peneira estática (5- Figura 7.4c) e leito de secagem (6 –Figura 7.4c).

**Figura 7.4:** Sistema de remoção hidrostática da espuma: (a) fluxograma esquemático das linhas de gás e espuma; (b) Visão da linha de espuma e válvulas de descarte; (c) Visão da peneira estática e leito de secagem.



## 7.2.2 Determinação da eficiência do dispositivo de remoção de espuma

Os testes foram realizados em um dos oito reatores UASB da ETE Laboreaux (reator 1). Dos sete separadores trifásicos do reator UASB monitorado, a eficiência de remoção da espuma foi avaliada empregando os STF 1 e 4 (ver identificação na Figura 7.3-a), enquanto que os STF 5 e 7 foram utilizados para a determinação da taxa de acumulação de espuma. Antes de iniciar os experimentos, a camada densa de espuma acumulada no reator UASB teve que ser removida, a fim de recuperar suas características de fluidez. A remoção foi feita por meio de caminhão limpa-fossa, com auxílio de mangote. Os experimentos foram conduzidos em duas etapas, conforme descrito a seguir:

### 7.2.2.1 Etapa 1: Testes para definir a melhor frequência de descarte

Em uma etapa anterior, a espuma foi coletada, quantificada e removida sistematicamente em diferentes frequências de descarte (Tabela 7.1), objetivando identificar a frequência que apresentasse melhor eficiência do dispositivo de remoção da espuma. O período experimental foi de quatro semanas para cada fase de teste.



**Tabela 7.1:** Frequência de descarte da espuma e condições operacionais de um reator UASB operando em escala real, comparando dois separadores trifásicos (STF 1 e 4)

Fase	Frequência de descarte	Vazão média no reator (L.s <sup>-1</sup> )	Concentração média afluente (mg.L <sup>-1</sup> )		Carga média afluente kg DQO/dia
			DBO	DQO	
1	Um por semana	87,8	204	596	4.519
2	Dois por semana	84,2	224	749	5.451
3	Dias alternados	82,6	157	421	3.004

#### 7.2.2.2 Etapa 2: Repetição de testes com a melhor frequência de descarte

Na segunda etapa, que teve duração de 6 semanas, foram realizados novos ensaios de descarte de espuma, adotando-se a melhor frequência definida na Etapa 1. Esses novos ensaios objetivaram ampliar o conjunto de resultados e também avaliar um sistema de tratamento de espuma, composto por unidades de peneiramento e de desidratação (Capítulo 8).

O procedimento padrão de descarte de espuma foi estabelecido como a seguir:

- 1) abertura das escotilhas dos STF 1 e 4;
- 2) isolamento da área de influência da espuma abaixo das escotilhas (0,25 m<sup>2</sup>);
- 3) remoção, por meio de uma peneira (abertura de 2 mm), da camada de espuma presente na área de influência das escotilhas;
- 4) peneiramento da espuma coletada para redução da fração líquida da espuma;
- 5) quantificação do volume de espuma através de um recipiente graduado;
- 6) fechamento das escotilhas e pressurização da linha de gás;
- 7) estabelecimento da pressão interna no interior do selo hídrico; conforme procedimento reportado por Rosa *et al.* (2012);
- 8) abertura das válvulas externas referentes aos STF 1 e 4, uma de cada vez, e descarte da espuma para a peneira estática e para o leito de secagem. Para esta operação foram realizados três descartes com duração de dois minutos para cada descarte, com base na remoção substancial de espuma e enchimento do leito;
- 9) abertura da escotilha de inspeção após a finalização do descarte e coleta da espuma remanescente na área de influência das escotilhas dos STF 1 e 4, conforme procedimento descrito no item 3.

Na Figura 7.5 são ilustrados os procedimentos estabelecidos para quantificar o volume de espuma na área de influência das escotilhas.

**Figura 7.5:** a) a abertura da escotilha; b) isolamento da área de influência da espuma abaixo da escotilha; c) remoção da espuma na área de influência e d) peneiramento da espuma coletada para redução da fração líquida da espuma



### 7.2.2.3 Determinação da taxa de acumulação de espuma

O monitoramento da acumulação de espuma foi realizada em dois dos sete separadores trifásicos (STF 5 e 7) do mesmo reator utilizado nos estudos de eficácia do dispositivo de remoção de espuma. Essa investigação foi realizada tanto na primeira quanto na segunda etapa da avaliação da eficácia do sistema de remoção de espuma. Entretanto, o período experimental para a primeira etapa foi de quatro semanas, enquanto que para a segunda etapa foi de seis semanas. Para estes dois STF, a espuma não foi removida durante o período monitorado (seis semanas), mas somente amostrada e quantificada de acordo com os seguintes procedimentos:

- 1) abertura das escotilhas 5 e 7;
- 2) isolamento da área de influência da espuma abaixo das escotilhas ( $0,25 \text{ m}^2$ );
- 3) remoção, por meio de uma peneira, da camada de espuma contida na área de influência das escotilhas;

4) quantificação do volume de espuma ( $L.m^{-2}$ ) utilizando um recipiente graduado, de acordo com procedimento proposto por Rosa *et al.* (2012).

A determinação da taxa de acumulação específica diária de espuma em cada um dos separadores trifásicos foi calculada através da relação entre a variação do volume específico de espuma acumulada, em  $L.m^{-2}$  e o número de dias de experimentação. A taxa de acumulação diária de espuma foi calculada pela multiplicação da produção específica diária pela área total de separadores trifásicos do reator UASB. Por último, foram determinados os coeficientes de acumulação da espuma, em função da carga de DQO média afluyente ao reator (mL de espuma por kg DQO aplicada).

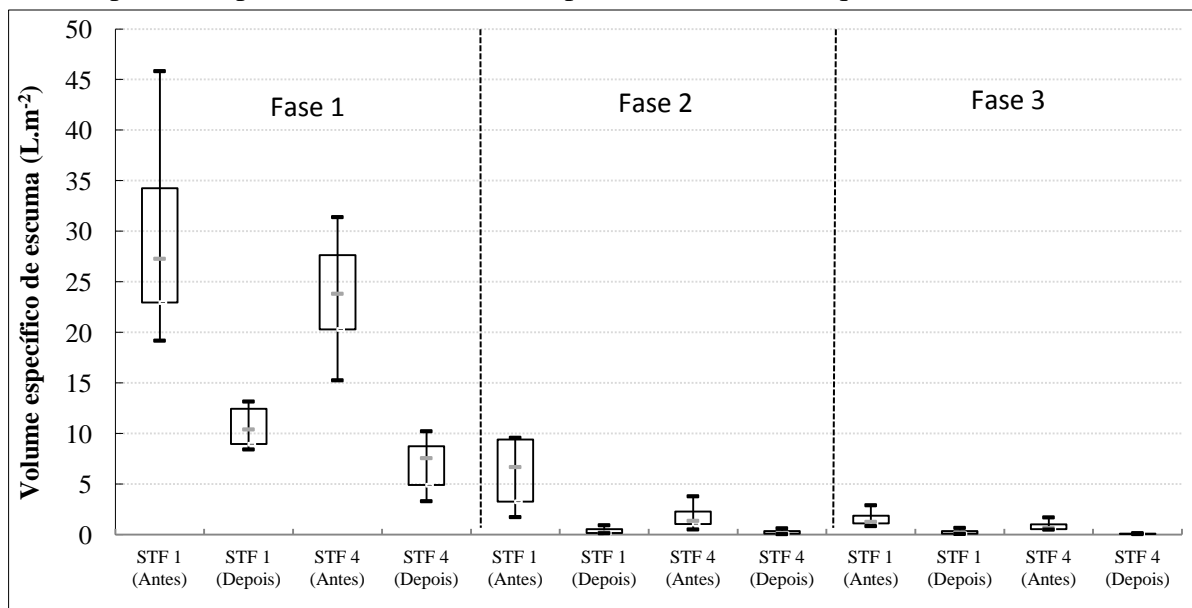
### 7.3 Resultados e discussão

#### 7.3.1 Determinação da eficácia do dispositivo de remoção de espuma

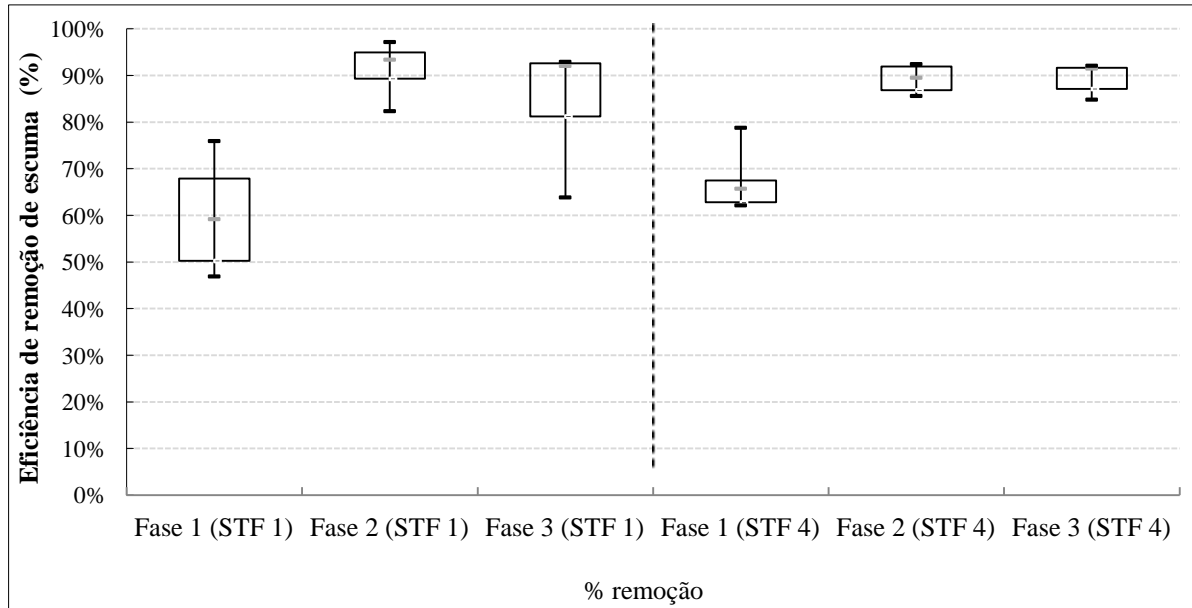
##### 7.3.1.1 Etapa 1: Testes para definir a melhor frequência de descarte

As Figuras 7.6 e 7.7 apresentam os resultados dos volumes específicos de espuma no interior dos separadores trifásicos 1 e 4, antes e após o descarte, assim como as eficiências de remoção obtidas. Os resultados são apresentados para as três diferentes frequências de descartes avaliadas (Fases 1, 2 e 3), conforme descrito na Tabela 7.1.

**Figura 7.6:** Box plot do volume específico de espuma antes e após os descartes de remoção, para os separadores trifásicos 1 e 4 para as diferentes frequências de descarte

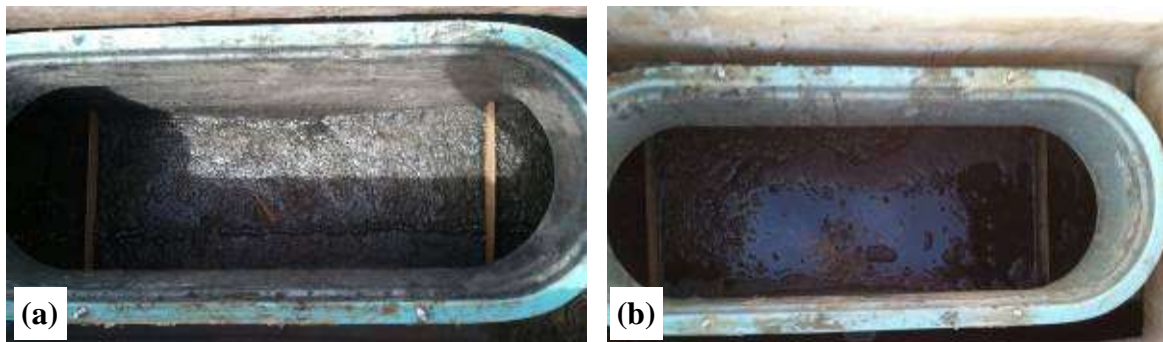


**Figura 7.7:** Box plot da eficiência de remoção da espuma para os separadores trifásicos 1 e 4 para as diferentes frequências de descartes avaliadas



As fotografias mostradas na Figura 7.8 possibilitam visualizar a quantidade de espuma presente no interior do STF 1, imediatamente antes e logo após o procedimento de descarte de espuma, durante a fase 2 da pesquisa, ressaltando a redução do volume de espuma na área de influência da escotilha (aproximadamente 0,25 m<sup>2</sup>).

**Figura 7.8:** Inspeção visual da camada de espuma na escotilha do STF 1: (a) antes (camada de espuma espessa) e (b) após o procedimento de descarte (redução de espuma)

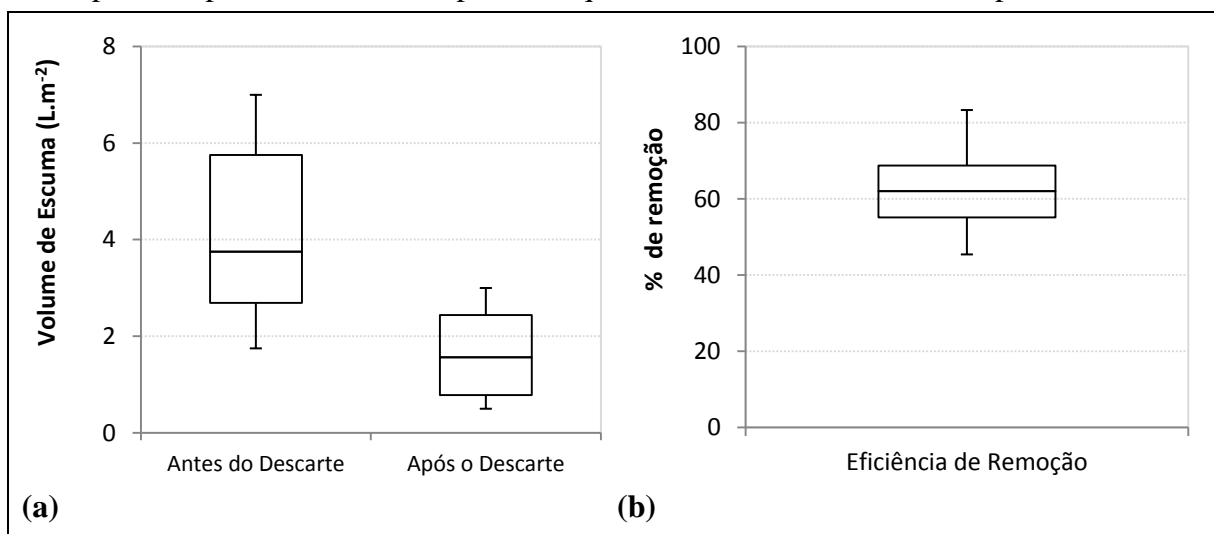


### 7.3.1.2 Segunda etapa: Repetição dos testes com a melhor frequência de descarte

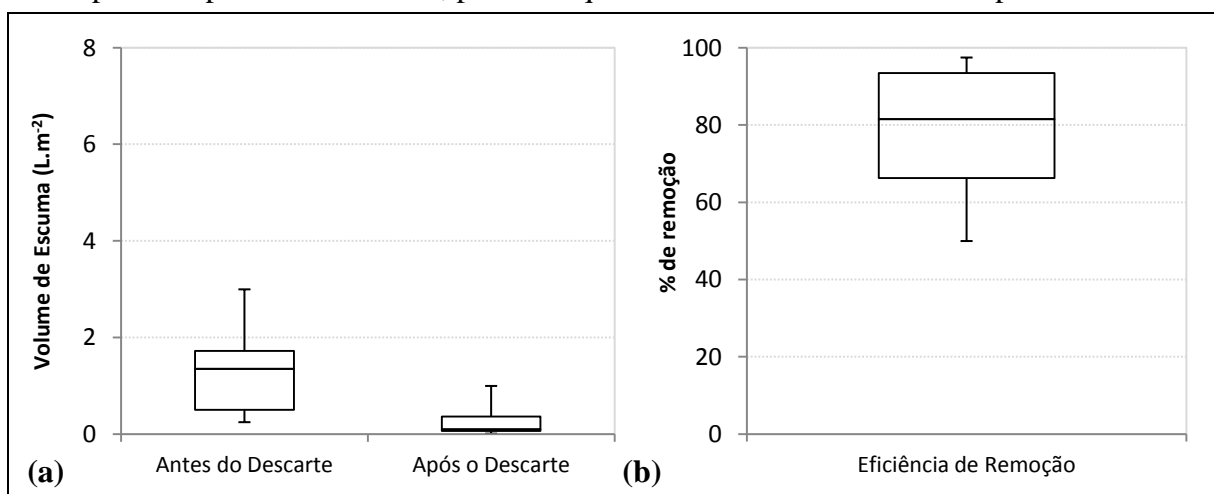
As Figuras 7.9 e 7.10, seguintes, apresentam os resultados dos volumes específicos de espuma no interior dos separadores trifásicos 1 e 2, antes e após o descarte, assim como as eficiências de remoção obtidas. Os resultados referem-se à frequência de descarte de duas vezes por semana, identificada como a mais adequada a partir dos testes realizados na etapa 1. As diferenças observadas entre os volumes de espuma nos dois separadores trifásicos pode estar relacionada ao procedimento de remoção de espuma pelo caminhão limpa-fossa nos

separadores trifásicos avaliados, antes da realização dos experimentos, que obteve menor remoção no STF 1, em que foi observado um maior volume residual de espuma.

**Figura 7.9:** Box plot dos volumes específicos (a) e de eficiências de remoção (b) de espuma para o separador trifásico 1, para a frequência de descarte de dois dias por semana



**Figura 7.10:** Box plot dos volumes específicos (a) e de eficiências de remoção (b) de espuma para o separador trifásico 4, para a frequência de descarte de dois dias por semana



Os resultados obtidos na repetição dos experimentos confirmam a eficácia do sistema de remoção hidrostática de espuma, todavia foram obtidas menores eficiências medianas de remoção (60% para o STF1 e 80% para o STF 4). Estas menores eficiências observadas durante a etapa 2 devem-se, possivelmente, às características da espuma que se acumulou nos separadores trifásicos, que se apresentou mais concentrada que na etapa 1, devido ao longo período de acúmulo decorrido entre os testes das etapas 1 e 2.

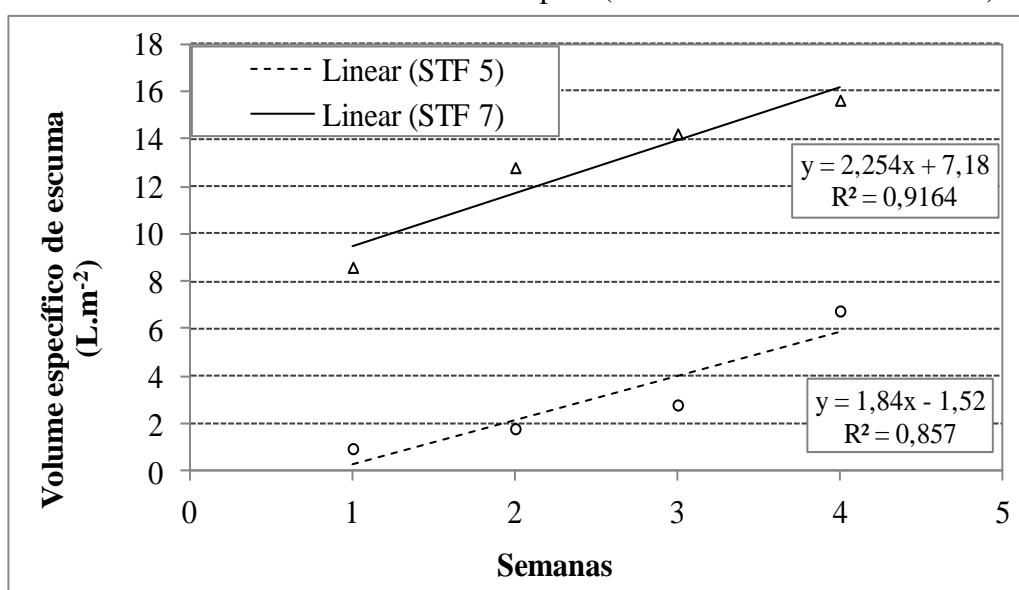
Ressalta-se que apesar das menores eficiências de remoção nesta segunda fase, ainda assim foi possível remover, de forma efetiva e simples a espuma do interior dos separadores trifásicos. Com isso, confirma-se o verificado por Leitão (2004) e Pereira (2012), que

relataram um melhor desempenho global do sistema de reatores UASB quando utilizaram menores intervalos de descarte conjunto da espuma e do lodo.

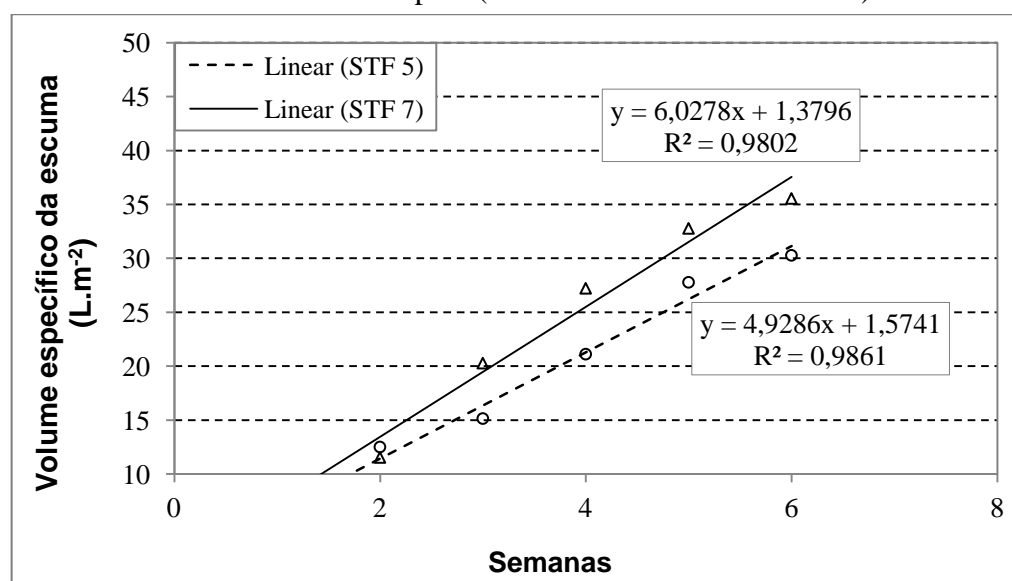
### 7.3.2 Taxa de acumulação de espuma

A avaliação das evoluções temporais de acúmulo de espuma foi realizada nos STF 5 e 7, nos quais nenhum descarte de espuma foi realizado ao longo do período de monitoramento, para as duas etapas da avaliação da eficácia do dispositivo de remoção da espuma. Os resultados desta avaliação são apresentados nas Figuras 7.11 e 7.12 considerando as etapas 1 e 2, respectivamente. As Figuras apresentam a evolução de acúmulo de espuma para os STF 5 e 7, bem como os ajustes de regressão linear e os respectivos coeficientes  $R^2$ .

**Figura 7.11:** Evolução dos volumes específicos de acumulação de espuma ( $L.m^{-2}$ ) no interior dos STF 5 e 7 observados durante a etapa 1 (4 semanas de monitoramento)



**Figura 7.12:** Evolução dos volumes específicos de acumulação de espuma ( $L.m^{-2}$ ) no interior dos STF 5 e 7 observados durante a etapa 2 (6 semanas de monitoramento)



Os resultados apresentados nas Figuras 7.11 e 7.12 mostram a tendência da evolução crescente dos volumes específicos de espuma, para ambos os separadores trifásicos avaliados. Foram observados elevados coeficientes de ajuste linear para ambos separadores trifásicos, como também elevado grau de paralelismo entre as retas de ajuste, em ambas as etapas, o que de certa forma demonstra a satisfatória reprodutibilidade dos resultados com a metodologia de medição empregada.

O tratamento dos resultados das Figuras 7.11 e 7.12 permitiu estimar as taxas de acumulação de espuma nas duas etapas da pesquisa e também calcular os coeficientes de produção de espuma, a partir da carga de DQO aplicada aos reatores. Esses resultados são apresentados na Tabela 7.2, a seguir.

**Tabela 7.2:** Remoção da espuma e condições operacionais de um reator UASB operando em escala real, comparando dois separadores trifásicos (STF 5 e 7)

Etapa	STF	Fluxo	TDH	Velocidade ascendente	Taxa de acumulação específica de espuma no STF	Taxa de acumulação de espuma no reator UASB*	Carga média afluyente ao reator UASB**	Coeficiente de produção de espuma no reator UASB
		(L.s <sup>-1</sup> )	(h)	(m.h <sup>-1</sup> )	(L.m <sup>-2</sup> .d <sup>-1</sup> )	(L.d <sup>-1</sup> )*	(kg DQO.d <sup>-1</sup> )	(mL.kgDQO <sup>-1</sup> )
1	5	4.9	34.3	0.13	0.20	1.260	146.3	8.61
	7				0.24	1.512		10.33
2	5	11.5	14.6	0.31	0.69	4.347	640.3	6.79
	7				0.80	5.040		7.87

(\*) considerou-se a área superficial da interface espuma/gás de cada STF igual a 0,9 m<sup>2</sup> (6,3 m<sup>2</sup> para o conjunto de sete STF em cada reator)

(\*\*) calculada a partir da carga orgânica média afluyente à ETE igual a 5.451 kgDQO.d<sup>-1</sup> (Tabela 7.1), dividida por 8 reatores UASB.

Observa-se para as diferentes condições operacionais que a etapa 1 foi caracterizada por um maior tempo de detenção hidráulica (34,3 h) e menor carga média afluyente ao reator (146,3kg DQO.d<sup>-1</sup>) em comparação à etapa 2. Nota-se no reator UASB que para maiores velocidades ascensionais do efluente há um aumento da taxa de acumulação específica de espuma, em virtude do maior fluxo e condução da espuma ao interior dos separadores trifásicos, em consonância com os resultados reportados por Souza (2006).

O coeficiente de produção de espuma variou de 7,87 a 10,33 mL.kgDQO<sup>-1</sup>. São poucos os estudos que apresentam dados de acúmulo volumétrico de espuma por DQO aplicada, dentre estes, destaca-se o de Santos (2003) com produção de 160 mL.kgDQO<sup>-1</sup> ao monitorar um reator UASB com baixa carga orgânica e elevada taxa de acumulação específica de espuma.

Os resultados apresentados na Tabela 7.2 fornecem uma informação relevante a ser considerada na elaboração em projetos de construção de reatores UASB, na tomada de

decisão referente à adoção de medidas preventivas de controle da espuma em estações de tratamento de esgotos. No entanto, deve-se levar em consideração que a taxa de acumulação da espuma possui relação direta com as características do esgoto bruto afluente e com as condições hidrodinâmicas do reator UASB, conforme já relatado nos estudos realizados por Souza (2006) e Pereira (2012).

#### **7.4 Conclusão**

Os testes de remoção hidrostática de espuma acumulada no interior de separadores trifásicos de reatores UASB em escala real, tratando esgoto doméstico, possibilitaram demonstrar a funcionalidade de tal dispositivo e também a confirmação da hipótese estabelecida:

- O estabelecimento de um adequado protocolo de descarte da espuma utilizando um dispositivo de remoção hidrostática possibilitou o controle efetivo de acumulação de material no interior de separadores trifásicos de reatores UASB tratando esgoto doméstico, conforme confirmado pela substancial redução do volume de espuma após a operação de descarte (apenas 10 a 40% de material remanescente, nos diversos testes realizados), como também pela elevação da eficiência de remoção observada com o incremento da frequência de descarte (maiores eficiências foram observadas para as frequências de descarte de dias alternados e de duas vezes por semana, em detrimento dos descartes semanais).



## **8 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UM SISTEMA DE PENEIRAMENTO E DE DESIDRATAÇÃO DE ESCUMA COM VISTAS AO SEU APROVEITAMENTO ENERGÉTICO**

### **8.1 Introdução**

A produção da espuma em reatores UASB, após a implantação de uma rotina adequada de descarte, gera a necessidade de um tratamento em um local de destinação final apropriado para esse material, pois a espuma apresenta em sua composição uma fração orgânica e heterogênea (SOUZA, 2006; PEREIRA, 2012), além de apresentar uma fração líquida com volume expressivo. Nesse contexto, unidades de leitos de secagem são indicadas para o desaguamento de lodo excedente e apresentam como vantagem a simplicidade operacional (GONÇALVES *et al.*, 2001).

O processo de desidratação da espuma em leitos de secagem pode ser considerado uma alternativa promissora de tratamento, que se destaca pela redução do volume, facilidade de remoção, menor custo de transporte e disposição final, assim como pode ser observado no tratamento do lodo excedente produzido em reatores UASB (ANDREOLI *et al.*, 2001). Adicionalmente, a grande complexidade apresentada pela espuma requer ainda a adoção de um sistema de peneiramento a fim de facilitar a sua desidratação no leito, com a separação da fração grosseira.

Atualmente, a diversificação da matriz energética tem se tornado um caminho a ser percorrido nas soluções propostas pela substituição dos combustíveis fósseis, diante da escassez desses recursos não renováveis, além da emissão de gases de efeito estufa durante a queima. Dessa forma, o suprimento energético a partir do aproveitamento de resíduos representa uma prioridade de interesse mundial, diante das vantagens apresentadas, como o uso de resíduos como biocombustível, além da redução do volume e melhoria no gerenciamento de resíduos.

No caso particular do tratamento de esgoto, estima-se que 30% do gasto operacional de uma ETE estão relacionados com a parcela energética (ROSA, 2013). Diante da preocupação com a minimização de uso de combustíveis fósseis em função do aumento da demanda energética para o tratamento mais eficiente de efluentes, destaca-se a necessidade vigente com a concepção da operacionalidade das unidades de tratamento com vistas à autoeficiência energética e redução dos custos (METCALF e EDDY, 2003), além da minimização dos impactos ambientais negativos.

Notoriamente, o emprego de reatores UASB no tratamento de esgoto doméstico vem aumentando gradativamente no Brasil e o número mais expressivo de ETEs são classificadas de pequeno e médio porte. Adicionalmente, observa-se uma nova realidade brasileira quanto ao uso dos subprodutos gerados no tratamento anaeróbico, a partir do aproveitamento energético, conforme evidenciado para o lodo anaeróbico e do biogás (ROSA, 2013). No entanto, com relação a espuma, ainda é um campo ainda a ser explorado.

A Lei 12.305, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, promulgada em 02 de agosto de 2010, estabelece uma distinção entre resíduo e rejeito. São considerados resíduos sólidos aqueles passíveis de serem reutilizados e ou reciclados. Por outro lado, podem ser consideradas como rejeitos, depois de esgotadas todas as possibilidades de tratamento e recuperação por processos tecnológicos disponíveis e economicamente viáveis. Em um de seus princípios atuais, incentiva o aproveitamento energético dos resíduos sólidos como uma destinação ambientalmente adequada, passando a ser considerados como um bem econômico, admitindo-se a disposição final em aterros apenas dos rejeitos (MMA, 2014).

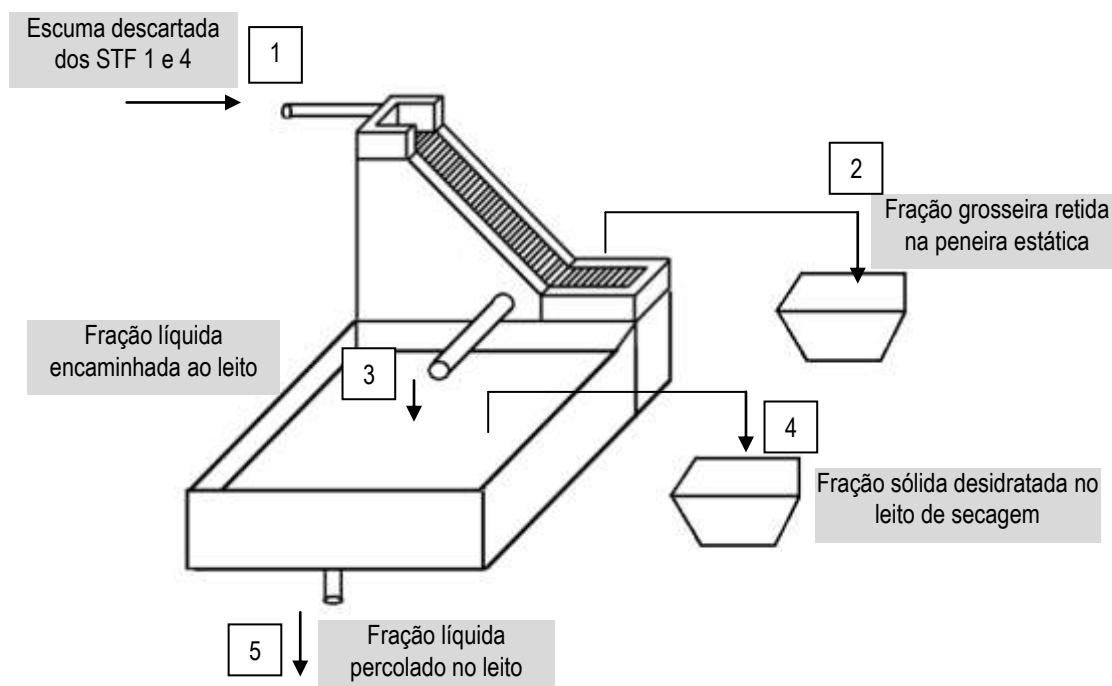
O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desaguamento da espuma, descartada de um reator UASB operando em escala real, em um sistema piloto composto de peneira estática acoplada em série a um leito de secagem, constituído de sistema drenante, com o objetivo desempenhar a função de separação sólido-líquido da espuma e favorecer o seu gerenciamento. Buscou-se ainda avaliar o aproveitamento energético da fração de espuma retida no sistema, frente às características apresentadas por esse resíduo após desaguamento.

## 8.2 Material e métodos

### 8.2.1 Aparato experimental

O aparato experimental foi composto de peneira estática e leito de secagem, conforme ilustrado na Figura 8.1. As características dimensionais e construtivas da peneira e do leito de secagem são apresentadas na Tabela 8.1.

**Figura 8.1:** Esquema ilustrativo do sistema de peneiramento e desidratação da espuma composto de peneira estática e leito de secagem e respectivos pontos de amostragem



**Tabela 8.1:** Características do sistema de separação e desidratação da espuma

Peneira estática		Leito de secagem	
Característica	Valor	Característica	Valor
Modelo	PE-20	Comprimento	3,4 m
Vazão de referência	25 (m <sup>3</sup> .h <sup>-1</sup> )	Largura	2,0 m
Largura	922 mm	Altura da camada de brita nº 1 e 2	100 mm
Abertura da tela	0,5 mm	Altura da camada de brita nº 3 e 4	200 mm
Tamanho de partícula retida	0,3 mm	Altura da camada de brita nº 4	150 mm
		Altura útil do leito de secagem	37 cm

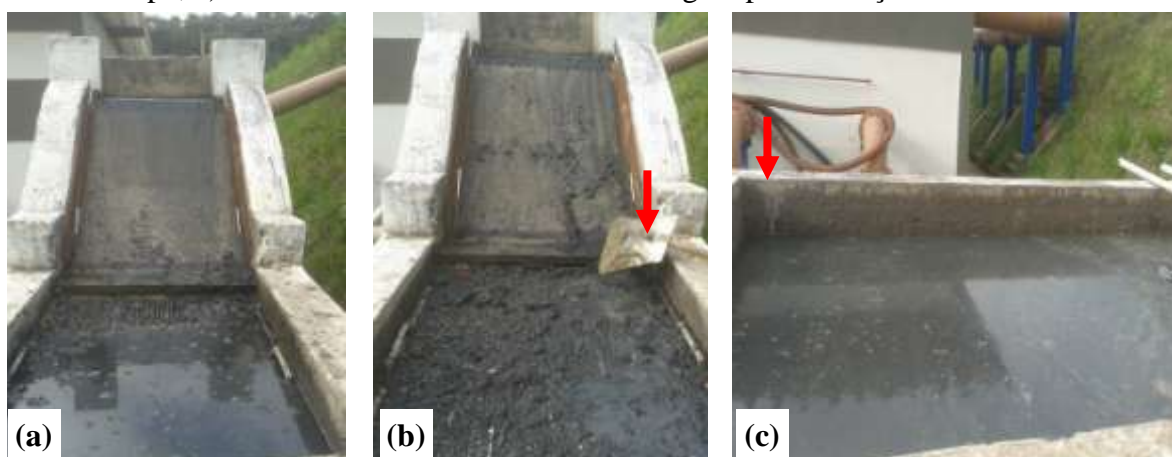
### 8.2.2 Procedimento experimental

Os testes foram realizados ao ar livre (sem cobertura, em dias sem ocorrência de chuvas), operados em regime de batelada, simultaneamente ao procedimento de descarte de espuma. A alimentação do sistema de peneiramento e leito de secagem era interrompida até a completa desidratação da espuma, adotando a melhor frequência de descarte, a partir dos resultados obtidos na etapa de descarte de espuma.

Ainda de acordo com a Figura 8.1, a espuma descartada nos STF 1 e 4 foi conduzida para a parte superior da peneira estática (Ponto 1). A fração grosseira da espuma era retida na tela de perfil trapezoidal, sendo direcionada pelo movimento do próprio líquido, que é favorecido pelo formato curvo do leito gradeado da peneira. A fração grosseira da espuma retida na peneira foi retirada na parte inferior da tela com auxílio de uma pá, onde o volume foi estimado com o auxílio de recipiente graduado e, por fim, foi acondicionada em caçamba (Ponto 2). Por sua vez, a fração líquida da espuma (que passou pela peneira) foi encaminhada ao leito de secagem (Ponto 3).

No leito de secagem, a cada batelada de descarte da espuma, foram aferidos, com o auxílio de uma fita métrica afixada na lateral do leito, os volumes de espuma, do percolado e, posteriormente, da fração sólida remanescente no leito (espuma desidratada). Adicionalmente, o volume percolado foi monitorado a cada hora durante as seis primeiras horas após os testes e, no dia seguinte, durante três períodos distintos (manhã, tarde e noite), objetivando determinar a taxa de infiltração do leito de secagem. Por fim, após observação da desidratação da espuma, era realizado uma aferição do volume da fração sólida da espuma resultante no leito, sendo esta removida com auxílio de uma pá e destinada a caçamba (Ponto 4), sempre antes da realização do teste seguinte. A fração líquida percolada (Ponto 5) era redirecionada para a estação elevatória de esgoto que alimentava os reatores UASB. Esse procedimento era repetido a cada batelada de teste realizado, de acordo com a melhor frequência de descarte (2ª etapa). A Figura 8.2 ilustra o processo de peneiramento e de desidratação da espuma em leito de secagem, após descarte nos STF 1 e 4 do reator UASB avaliado.

**Figura 8.2:** Fotos do sistema de peneiramento e desidratação de espuma: a) espuma afluyente à peneira estática; b) remoção da fração grosseira retida na peneira estática com auxílio de pá; c) fita métrica afixada no leito de secagem para medição do volume



Além disso, foi realizada uma caracterização físico-química com os parâmetros de DQO, óleos e graxas, série de sólidos, composição elementar, composição imediata, poder calorífico inferior e superior, conforme observado na Tabela 8.2. As análises de parâmetros físico-químicos da espuma para cada etapa do processo visaram identificar a eficiência do sistema de peneiramento e desidratação. As análises de parâmetros energéticos visaram identificar o potencial uso da espuma como fonte energética.

A Tabela seguinte apresenta os pontos e análises realizadas no monitoramento do sistema de peneiramento e desidratação da espuma.

**Tabela 8.2:** Pontos de amostragem e respectivos parâmetros monitorados

Pontos de amostragem	Descrição das amostragens	Análises realizadas
1	Fração grosseira retida na peneira estática	Volume, sólidos, O&G, umidade, CE, Cl, PCS e PCI
2	Fração líquida encaminhada ao leito de secagem	Volume do leito, DQO e O&G
3	Fração sólida desidratada no leito secagem	Volume do leito, Sólidos, O&G, umidade, CE, Cl, PCS e PCI
4	Líquido drenado do leito de secagem	Volume do leito, DQO e O&G

### 8.2.3 Caracterização físico-química

Quando da retirada da espuma para a quantificação do volume acumulado, uma alíquota foi sempre tomada como amostra, de modo a possibilitar a realização de análises laboratoriais de natureza físico-química. As análises físico-químicas da espuma, descritas na Tabela 8.2, foram realizadas no laboratório da ETE Laboreaux, de acordo com procedimentos

estabelecidos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, AWWA, WEF, 2012).

#### 8.2.4 Avaliação das propriedades energéticas da espuma

Antes de se proceder efetivamente as análises químicas e térmicas das amostras de espuma, a fração grosseira retida na peneira estática e a fração sólida desidratada no leito de secagem foram submetidas a um tratamento prévio, por meio do processo de secagem em estufa a 150 °C, visando à redução da umidade. Em seguida, as amostras secas foram levadas ao Laboratório de Minérios do Departamento de Engenharia de Minas da UFMG, sendo trituradas em um moinho de painéis vibratórias (Modelo DR200), com rotação de 1200 rpm, durante um tempo de 3 minutos, a fim de homogeneizá-las ao máximo e desconstituir a emaranhada estrutura original da espuma.

Após o tratamento prévio das amostras, as amostras secas e trituradas foram enviadas para análise no laboratório de Ensaio de Combustíveis do Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC), localizado em Belo Horizonte - MG. Foram realizadas quatro análises das amostras de espuma retidas na peneira estática e desidratada no leito de secagem, sendo cada análise realizada em triplicata. As amostras de espuma foram caracterizadas quanto à composição elementar empregando o Analisador CHNS (modelo 2400. Série II. Perkin Elmer) e composição imediata (sólidos fixos, voláteis e cinzas) utilizando o forno Mufla (EDG, model 3P-S). O poder calorífico superior (PCS) da espuma foi determinado com o uso de uma bomba calorimétrica adiabática (PARR 2081), conforme a NBR 8.112, que descreve sobre os métodos de ensaio de carvão vegetal. O PCI foi determinado a partir do PCS, conforme descrito a seguir.

Para a determinação do PCI e diante da variação deste com a umidade, Cortez *et al.* (2008) apresentam um modelo para a conversão do PCS (base seca) para o PCI (base úmida), como segue na Equação 1.

$$PCI_t = [(PCS_s - \lambda \cdot (r + 0,09H_s)) \cdot (100 - W_t) / 100] \quad (\text{Equação 1})$$

Em que:

$\lambda$  = calor latente da água (2,31 MJ/kg a 25°C);

$r = W_t / (100 - W_t)$ ;

$W_t$  = umidade na base úmida;

$H_s$  = % de hidrogênio (base seca).

## 8.3 Resultados e discussão

### 8.3.1 Caracterização físico-química da espuma descartada nos STF 1 e 4

A caracterização físico-química referente a espuma acumulada no reator UASB para o período avaliado, descartada nos STF 1 e 4, é apresentada na Tabela 8.3.

**Tabela 8.3:** Estatística descritiva da espuma antes do descarte para a vazão afluyente ao reator UASB e as concentrações de DQO, O&G, ST e STV

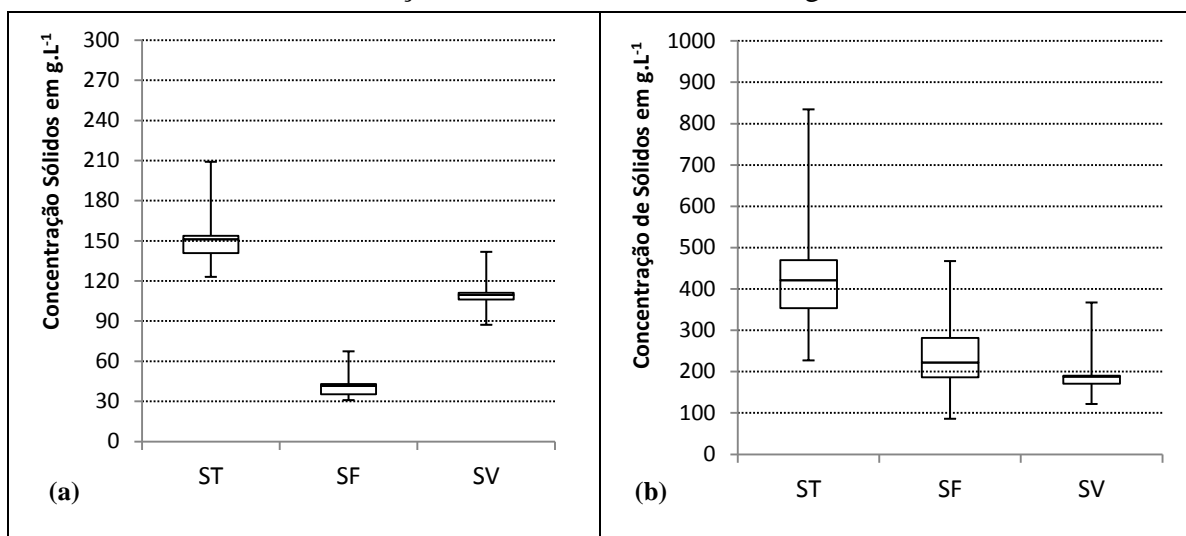
Parâmetros	Mínimo	Máximo	Média	Mediana	Desvio Padrão
Vazão (L.s <sup>-1</sup> )	80	105	93	89	3,8
DQO (g.L <sup>-1</sup> )	38,0	128,1	60,7	48,6	33,5
O&G (g.L <sup>-1</sup> )	0,061	2,154	1,045	0,628	0,730
ST (g.L <sup>-1</sup> )	102,5	287,6	162,7	130,5	54,69
STV (g.L <sup>-1</sup> )	67	187,3	119,2	101,3	36,63

Inicialmente, e de maneira geral, os resultados das características físico-químicas da espuma acumulada nos separadores trifásicos, antes do descarte, apresentaram uma grande variabilidade entre os parâmetros avaliados. Os resultados referentes aos teores de DOQ mostraram-se em consonância aos encontrados por Pereira (2012), porém, apresentaram-se superiores quanto ao teor de sólidos, evidenciando a grande heterogeneidade da espuma, em função da variação dos seus constituintes particulados, associados às flutuações das cargas de sólidos e matéria orgânica afluyente ao sistema de tratamento de esgoto em diferentes períodos.

### 8.3.2 Caracterização físico-química da espuma separada na peneira estática e desidratada no leito de secagem

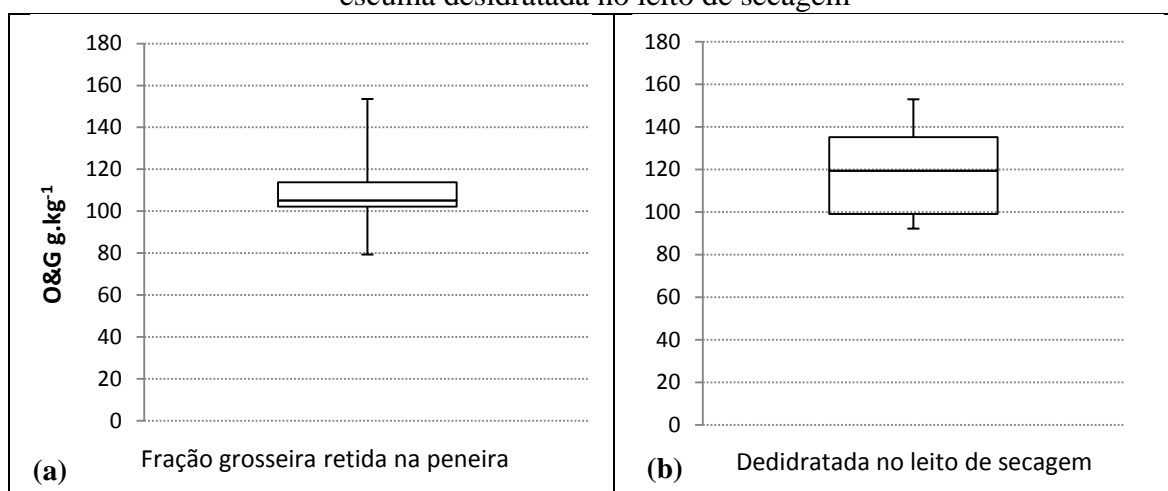
A Figura 8.3 apresenta a caracterização dos sólidos presentes na fração grosseira da espuma retida na peneira estática (após descarte) e da fração encaminhada ao leito de secagem (fração passante pela peneira). Os valores de mediana obtidos para os teores de sólidos totais na espuma retida na peneira estática e desidratada no leito foram de, respectivamente, 151 e 421 g.L<sup>-1</sup>.

**Figura 8.3:** Caracterização dos sólidos na espuma: a) fração grosseira retida na peneira; b) fração desidratada no leito de secagem



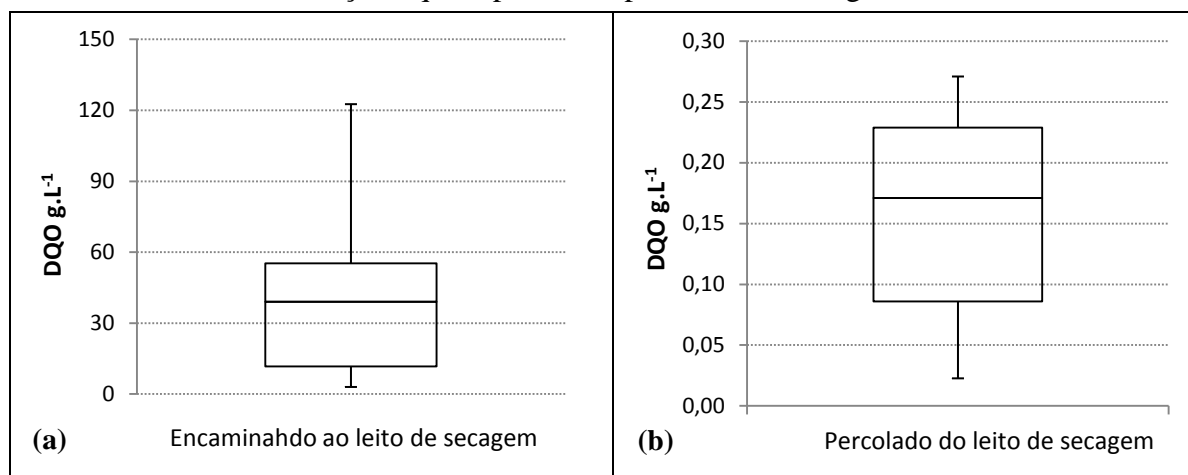
A Figura 8.4 apresenta a variação dos teores de O&G observados para a fração grosseira da espuma retida na peneira e da fração desidratada no leito de secagem. Como se pode observar tanto a espuma retida quanto a espuma passante pela peneira estática apresentaram elevados teores de O&G, com medianas de 105 g.kg<sup>-1</sup> e 120 g.kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

**Figura 8.4:** Caracterização de O&G na espuma: a) espuma retida na peneira estática; b) espuma desidratada no leito de secagem



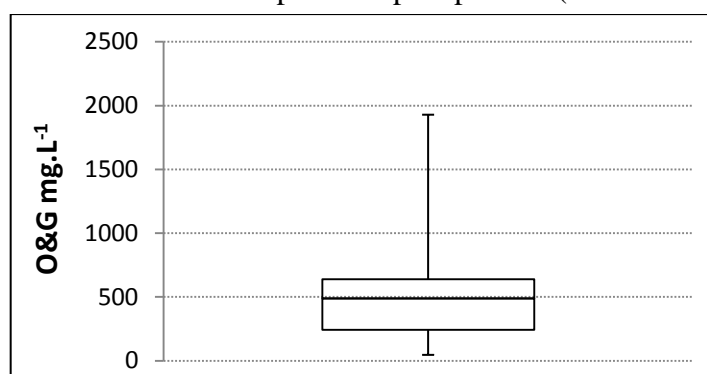
A Figura 8.5 apresenta gráficos box plot dos resultados de DQO para as frações de espuma monitoradas no leito de secagem (afluente e percolada). Os resultados mostram grande variação das concentrações de DQO da espuma afluente ao leito de secagem, com valor mediano de 39 g.L<sup>-1</sup>. Contudo, observou-se uma considerável redução da DQO na fração líquida percolada, que apresentou uma mediana de 183 mg.L<sup>-1</sup>, demonstrando a eficácia do leito de secagem, que contribuiu satisfatoriamente para a retenção de matéria orgânica presente na espuma.

**Figura 8.5:** Caracterização da DQO da espuma: a) espuma afluente ao leito de secagem; b) fração líquida percolada pelo leito de secagem



Assim como para a DQO, também os teores de O&G apresentaram-se elevados e bastante variáveis para a espuma afluente ao leito de secagem, que apresentou valor mediano de 489,5 mg.L<sup>-1</sup>, conforme pode ser observado na Figura 8.6. Já os valores encontrados para o teor de O&G do líquido percolado no leito de secagem apresentaram-se extremamente baixos, da ordem de 20 mg.L<sup>-1</sup>, o que mostra a eficiência do leito na retenção de óleos e graxas, presentes na espuma.

**Figura 8.6:** Teor de O&G da espuma passante pela peneira (afluente ao leito de secagem)



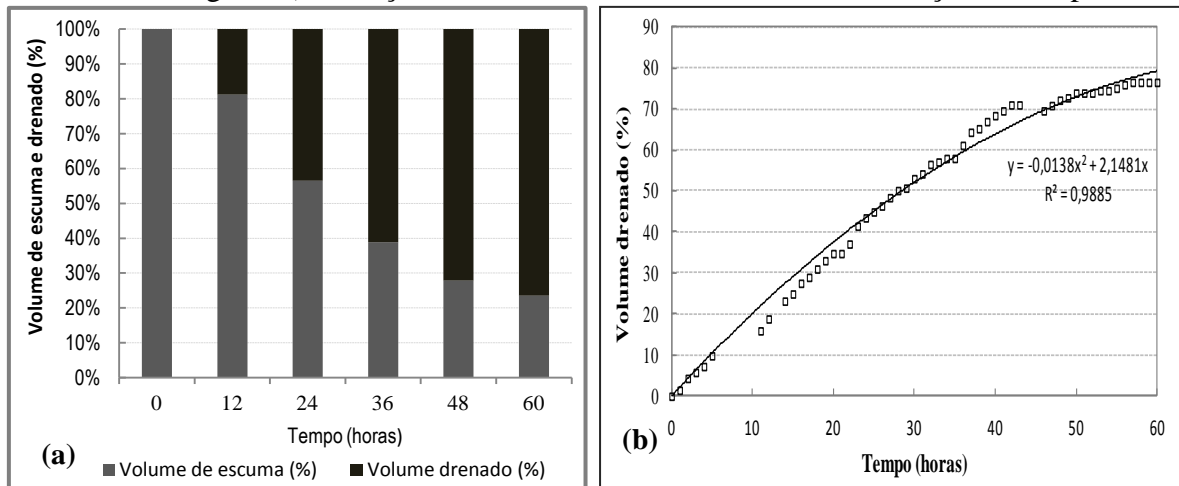
As baixas concentrações de DQO e de O&G obtidas na fração líquida percolada pelo leito de secagem indicam a possibilidade de retornar esse líquido para os reatores UASB, com reduzido impacto no tratamento biológico, durante o período avaliado.

### 8.3.3 Eficiência do sistema de desidratação da espuma

Para avaliar a eficiência do leito de secagem, foi monitorada a perda de água (umidade) no sistema, conforme mostrado na Figura 8.7. Pode-se observar que a maior perda de água ocorre nas primeiras 36 horas, com aproximadamente 60% de redução do volume total. Ao término do período de monitoramento (60 horas), foi obtida uma espuma bastante desidratada, com volume remanescente correspondente a pouco mais de 20% do seu volume inicial.



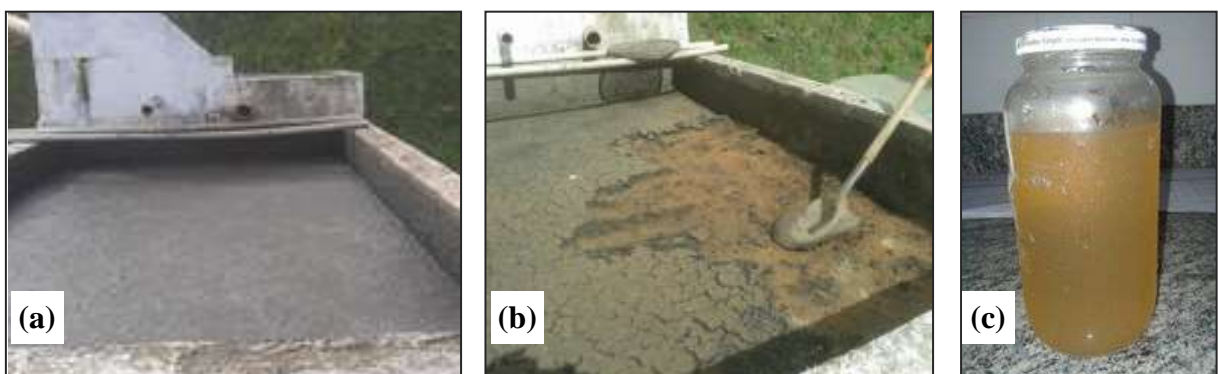
**Figura 8.7:** Desempenho do leito de secagem: a) distribuição do volume de espuma no leito de secagem; b) evolução do volume drenado acumulado em função do tempo



Esses resultados mostraram-se surpreendentes, uma vez que a espuma mostrou excepcional aptidão ao desaguamento em leito de secagem, sem qualquer aparente efeito prejudicial dos óleos e graxas em termos de colmatação do sistema drenante. A eficiência de desaguamento da espuma se mostrou bem superior à observada para lodos biológicos, que podem se estender por mais de 20 dias (JORDÃO & PESSOA, 1995). A hipótese mais provável para explicar esse resultado seria a flotação dos sólidos decorrentes da presença de O&G, facilitando a percolação da fração líquida através do sistema drenante do leito.

Na Figura 8.8 é possível visualizar a espuma disposta no leito, a espuma desidratada após o período de 60 horas, bem como o aspecto da fração líquida percolada no leito de secagem.

**Figura 8.8:** Aspecto das frações sólida e líquida da espuma: a) espuma disposta no leito de secagem; b) espuma após período de secagem de 60 h; c) líquido percolado no leito de secagem



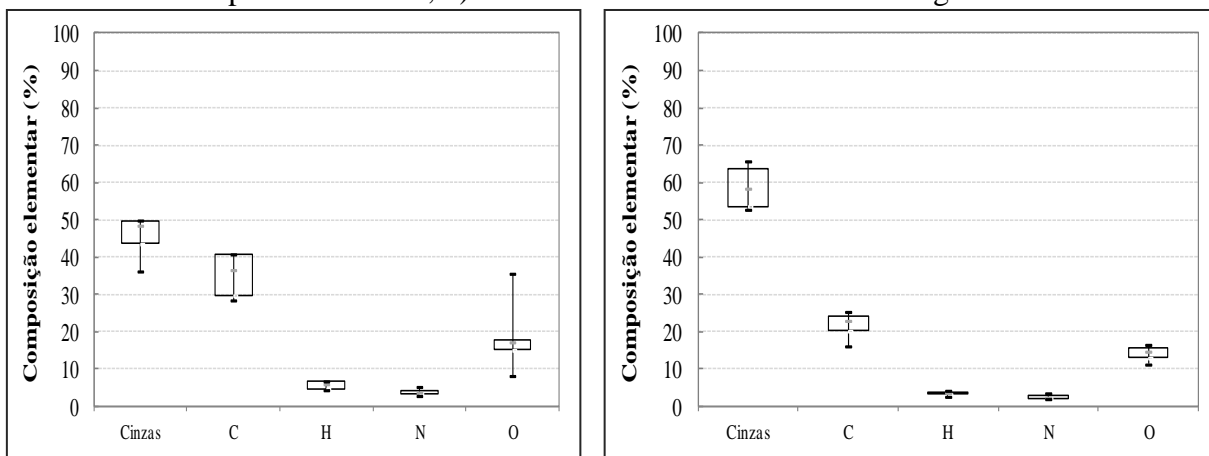
### 8.3.4 Avaliação das propriedades energéticas da espuma

Alíquotas das frações de espuma retidas na peneira e desidratada no leito de secagem foram submetidas a análises laboratoriais para determinação de suas propriedades energéticas,

visando a classificação como potencial fonte de energia. Para tanto, as análises de composição elementar, composição imediata e de poder calorífico deram suporte a esta avaliação.

Os resultados referentes à composição elementar da fração grosseira da espuma retida na peneira estática e a fração desidratada no leito de secagem encontram-se expressos na Figura 8.9, que apresentam uma comparação entre as duas frações.

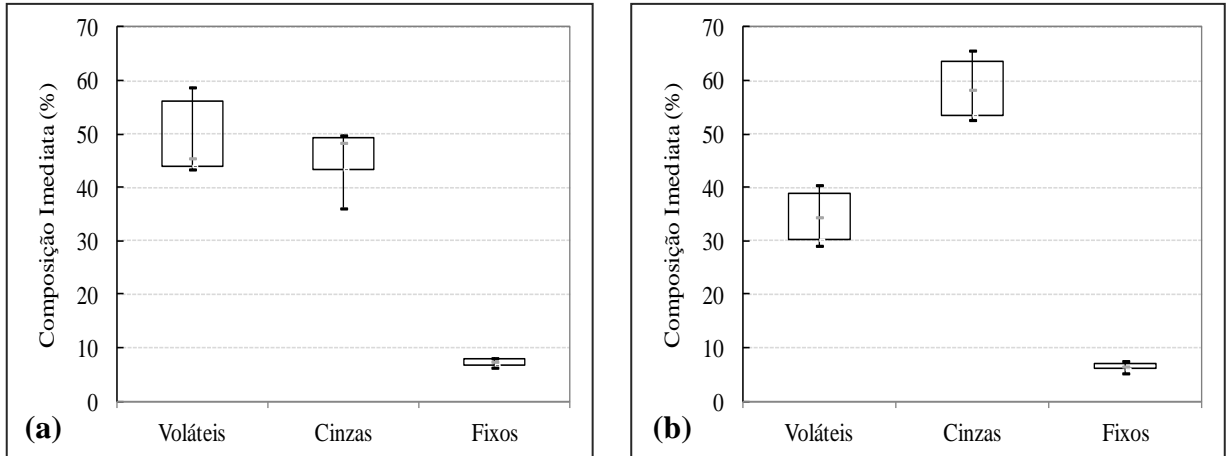
**Figura 8.9:** Box plot dos resultados de composição elementar da espuma: a) espuma retida na peneira estática; b) espuma desidratada no leito de secagem



Observou-se que a espuma removida de reatores UASB, apesar do elevado teor de cinzas, apresenta propriedades energéticas satisfatórias, visto o elevado teor de carbono e hidrogênio garantem o potencial energético disponível no material *in natura*. Ademais, a espuma removida na peneira estática apresentou maior potencial de recuperação energética, o que é atestado pela maior contribuição de carbono e hidrogênio em sua constituição elementar e também menor teor de cinzas, em comparação com a caracterização da espuma retida no leito de secagem. O elevado teor de carbono fixo da espuma retida na peneira indica uma maior quantidade de calor gerado.

A Figura 8.10 apresenta as composições imediatas obtidas para a espuma coletada na peneira e para a espuma desidratada no leito de secagem. A análise da composição imediata de um combustível fornece a percentagem de material volátil, carbono fixo e cinza. Em outras palavras ela fornece a percentagem do material que se queima no estado gasoso (material volátil) e no estado sólido (carbono fixo), bem como fornece uma indicação do material residual resultantes da combustão dos componentes orgânicos e oxidação dos inorgânicos (cinzas).

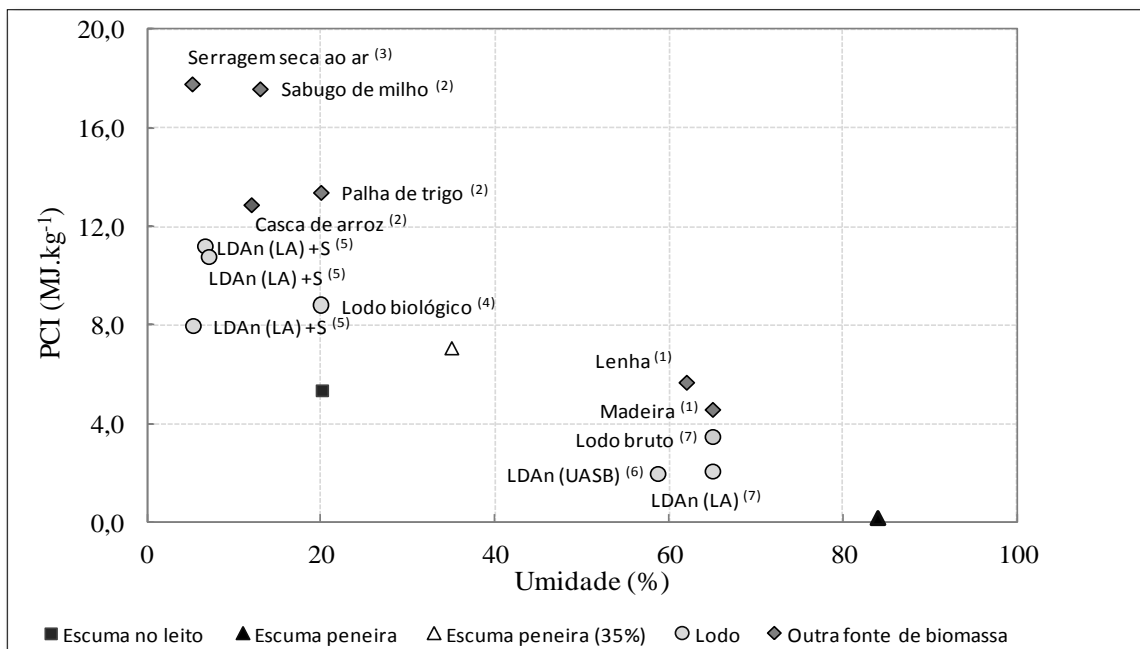
**Figura 8.10:** Composição imediata da espuma: a) fração grosseira retida na peneira; b) fração desidratada no leito de secagem



Analisando-se os valores obtidos na composição imediata, observa-se que o material desidratado apresenta um maior teor de cinzas que a espuma removida na peneira estática, o que ratifica a maior potencialidade energética da fração retida na etapa de peneiramento.

Complementarmente, para o estudo do potencial energético de espuma em ETE faz-se relevante o conhecimento do poder calorífico inferior em função dos teores de umidade em que é gerado, base de trabalho (b.t), conforme ilustrado na Figura 8.11, a qual também mostra o PCI (b.t) de outras fontes de biomassa.

**Figura 8.11:** Variação do poder calorífico inferior da espuma em relação à umidade e comparação com outras fontes de biomassa.



**Legenda:** LDAn: lodo digerido anaerobiamente, LA: lodos ativados, S: secagem. **Fonte:** (1) Nogueira e Lora (2003), (2) Lopes *et al.* (2001), (3) Pinheiro *et al.* (2005), (4) FAAIJ *et al.* (1997), (5) Fonts *et al.* (2009), (6) Rosa (2013), (7) Houdkova *et al.* (2008).

O teor de umidade apresentado pela espuma encaminhada ao sistema de peneiramento e desidratação foi de 84,1%. Com esta elevada umidade a espuma não liberaria calor com o uso do material como combustível. Entretanto, verificou-se que a espuma, mediante secagem, pode ser considerada fonte potencial de combustível. Os dados apontaram o aumento da densidade energética da espuma retida na peneira, de 0,8 para 7,1 MJ.kg<sup>-1</sup>, com a premissa da secagem natural da espuma, com redução do teor de umidade de 84,5 para 35%. Quanto a espuma desidratada no leito de secagem, observou-se uma umidade final de 20,1%, em que o PCI foi da ordem de 5,8 MJ.kg<sup>-1</sup>.

A espuma retida na peneira estática apresenta maior poder calorífico inferior, demonstrando um maior potencial energético que a espuma desidratada no leito de secagem, mesmo apresentando maior conteúdo de umidade (35% contra 20% da espuma desidratada no leito). Esses resultados mostram a relevância do processo de secagem após a separação das fases, a fim de garantir a valorização energética deste subproduto do tratamento anaeróbio. Por outro lado, observou-se um maior volume residual de espuma desidratada no leito de secagem quando comparada ao volume de espuma retido na peneira, durante o processo de avaliação do tratamento. Dessa forma, alternativas que promovam a melhoria da eficiência do processo de desidratação e permitam a secagem do material tornariam ainda mais favorável o uso da espuma como fonte de energia.

Comparativamente a outros tipos de biomassa, conforme mostrado na Figura 8.11, observa-se, para um mesmo teor de umidade, igual a 20%, que o PCI da espuma desidratada no leito de secagem (5,8 MJ.kg<sup>-1</sup>) foi inferior ao do lodo biológico (8,2 MJ.kg<sup>-1</sup>) (FAAIJ *et al.*, 1997) e da palha de trigo (13,4 MJ.kg<sup>-1</sup>) conforme relatado por Lopes *et al.*, (2001). Por outro lado, o PCI da espuma retida na peneira a 35% de umidade (7,1 MJ.kg<sup>-1</sup>) mostrou-se superior em relação ao do lodo anaeróbio a 20% de umidade (2,0 MJ.kg<sup>-1</sup>) (Figura 8.11-6), também gerado na ETE Laboreaux, sendo, portanto, um indicativo de que, para esta ETE, a espuma apresenta potencial bem mais elevado para aproveitamento energético.

Diante das características energéticas apresentadas, nota-se que a espuma, até então considerada um rejeito passível de aterramento, pode se tornar uma fonte potencial de energia, seja a partir da fração grosseira retida na peneira como após a desidratação em leito de secagem. Isso evidencia uma possível mudança de paradigma em relação ao seu destino final, permitindo a sua valorização e incentivando, de certo modo, os gestores das companhias de saneamento na tomada de decisões que priorizem a gestão mais sustentável dos subprodutos sólidos gerados durante o tratamento dos esgotos. Além disso, contempla os requisitos da Lei 12.305, referente a nova Política Nacional de Resíduos Sólidos, no que tange ao gerenciamento adequado de resíduos dos serviços públicos de saneamento a partir do aproveitamento energético da espuma. Ademais, pode contribuir para uma maior autonomia energética para estações de tratamento de esgotos.

## **8.4 Conclusões**

Os testes com o sistema de peneiramento e de desidratação de espuma possibilitaram demonstrar a funcionalidade do sistema como também a confirmação da hipótese estabelecida:

- A utilização do sistema de peneiramento e de desidratação da espuma possibilitou a efetiva separação da fração grosseira e uma substancial redução de volume desse material no leito de secagem, que proporcionou uma redução de cerca de 80% do volume da fração passante pela peneira, em apenas 60 horas de teste de desidratação;
- Esses resultados podem conferir importantes benefícios em termos de redução dos custos de disposição final da espuma removida dos reatores, como também de elevação do potencial de aproveitamento energético da ETE. A espuma desidratada no leito de secagem, apesar de conter elevado teor de cinzas e menor fração de sólidos voláteis que a espuma retida na peneira, apresentou características favoráveis para ser aplicada em processos térmicos de geração de energia;
- Ainda, a fração líquida da espuma, drenada no leito de secagem, apresentou baixa concentração de DQO e de O&G, confirmando a possibilidade de retorno da fase líquida para o sistema biológico de tratamento.
- Os resultados obtidos em relação às características energéticas da espuma permitiram evidenciar que a esta apresenta-se como uma fonte potencial de energia, a partir da fração grosseira retida na peneira e após a desidratação, evidenciando a mudança de paradigma para o seu destino final, considerado até então um rejeito passível de aterramento.

## 9 CONCLUSÕES GERAIS DO ESTUDO

O presente trabalho avaliou diferentes cenários para o gerenciamento da espuma proveniente de reatores UASB, tratando esgoto doméstico. No primeiro cenário avaliou-se o efeito da aplicação de enzimas na biodegradação anaeróbia e no segundo cenário foi avaliada a eficiência de remoção hidrostática com uma rotina adequada de descarte de espuma e as condições operacionais de um sistema de separação e desidratação (composto de peneira estática e leito de secagem), como alternativa para a destinação final da espuma, permitindo também ampliar o conhecimento sobre as características energéticas deste resíduo. A partir dos resultados observados, podem-se destacar as seguintes conclusões principais:

### Quanto ao emprego da lipase comercial Lipolase 100L

A hipótese de que a Lipolase 100L possibilita o aumento da eficiência da biodegradação anaeróbia da espuma, propiciando incremento da eficiência de remoção de DQO e óleos e graxas, como também a maior produção de metano foi confirmada. A aplicação desta enzima (concentração a 1,0%) na biodegradação anaeróbia da espuma proporcionou um incremento na produção de metano quando comparado ao tratamento sem adição de enzima, propiciando um aumento na eficiência de remoção da matéria orgânica e óleos e graxas presentes na espuma.

### Quanto ao emprego da lipase obtida do látex de *Carica papaya* (papaína crua)

A hipótese de que a papaína bruta apresenta desempenho semelhante ou superior ao da lipase comercial na biodegradação anaeróbia da espuma também foi confirmada. A produção de metano e a eficiência de remoção de DQO e O&G obtida com a papaína crua foi maior quando comparada com a enzima comercial Lipolase 100L, assim como foi maior a eficiência de remoção de DQO e O&G. A hipótese de que a papaína crua apresenta um aumento na produção de metano foi confirmada para a espuma.

### Eficiência da remoção hidrostática com uma frequência adequada de descarte da espuma

A hipótese de que uma rotina de descarte adequada da espuma empregando um dispositivo de remoção hidrostática permite o controle efetivo da espuma acumulada em separadores trifásicos de reatores UASB tratando esgoto doméstico foi confirmada. A adoção de uma rotina de descarte de espuma duas vezes na semana revelou uma eficácia da remoção da espuma variando entre 60 e 90%.

### Sistema de peneiramento e de desidratação de espuma

A hipótese de que o tratamento da espuma em unidades de peneiramento e de desidratação, composto de peneira estática e leito de secagem, também foi confirmada, haja vista a elevada eficácia na separação das frações líquida e sólida e redução substancial do volume da fração sólida. Os resultados de caracterização das diversas frações da espuma separadas no sistema

de tratamento, demonstram que a peneira estática e leito de secagem constituem-se em uma alternativa para o gerenciamento e aproveitamento energético da espuma.

Assim, concluiu-se que os cenários propostos apresentam contribuições relevantes e promissoras para o gerenciamento da espuma, podendo auxiliar na tomada de decisão a respeito da adoção de medidas de controle da espuma. No entanto, para o primeiro cenário, outros estudos em escala real se fazem necessários para a sua completa consolidação, levando em consideração o custo de obtenção das enzimas. O segundo cenário apresenta uma relevante proposta para implementação em ETE operando com reatores UASB, uma vez que possibilitam estudos prévios sobre a estimativa de acúmulo de espuma dentro de separadores trifásicos de reatores UASB, permitindo assim um planejamento operacional de controle da espuma, além de tratar-se de unidades operacionais simplificadas.

## 10 RECOMENDAÇÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram identificar alguns pontos que ainda podem ser explorados. Portanto, recomenda-se para pesquisas futuras:

- Realizar testes de biodegradabilidade da espuma empregando o tratamento enzimático, após a remoção da fração grosseira da espuma, visando investigar se a atuação das enzimas pode ser mais eficaz sem a fração de detritos (lixo);
- Avaliação da eficácia da aplicação de enzimas diretamente dentro dos separadores trifásicos de reatores UASB em operação;
- Realizar um estudo da viabilidade econômica da aplicação de enzimas no tratamento da espuma.
- Estimar o potencial energético gerado pela espuma proveniente de reatores UASB e as alternativas de seu uso em benefício da ETE estudada.



## 11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHARYA, C. & KURIAN, R. Anaerobic co-digestion of a single source oily waste and high Strength pet food wastewater: A study of failure and revival of a full scale digester. Water Environment Foundation. p.5066-5073, 2006.
- ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias; Lodo de esgotos: tratamento e disposição final. 1.ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, Companhia de Saneamento do Paraná, 2001. 484p
- AIYUK, S., FORREZ, I., LIEVEN, D. K., VAN HAANDEL, A.C., VERSTRAETE, W. Anaerobic and complementary treatment of sewage in regions hot climates - A reviews. *Bioresource Technology*, v. 97, p. 2225-2241, 2006.
- AITKEN M.D., MASSEY I.J., CHEN T., HEILER. “Characterization of reaction products from the enzyme catalyzed oxidation of phenolic pollutants”, *Water Research*, v.28, n.9, pp. 1879-1889, 1994.
- ABDELKAFI, S. BAROU, N. FOUQUET, B.; FENDRI, I.; PINA, M.; SCHEIRLINCKX, F.; VILLENEUVE, P; CARRIÈRE, F. *Carica papaya*: a Naturally Immobilized Enzyme with Interesting Biochemical Properties. *Plant Foods Hum Nutr*, v.66, n.34, 2011.
- ALVES, M. M.; MOTA, J. A. V.; ÁLVARES, R. M. P., PEREIRA, M.A.; MOTA, M. “Effects of lipids and oleic acid on biomass development in anaerobic fixed-bed reactors. Part II: Oleic acid toxicity and biodegradability”, *Water Research*, v.35, n.1, p.264-270, 2001.
- ALVES, M. M.; PEREIRA, M. A.; SOUSA, D. S.; CAVALEIRO, A.J. PICAVET, M.; SMIDT, H.; STAMS, A. J. M.. Waste lipids to energy: how to optimize methane production from long-chain fatty acids (LCFA). *Microbial Biotechnology*, v.2, n.5, p.538–550, 2009.
- APHA, AWWA, WEF. Standard Methods for examination of water and wastewater. 22 ed. Washington: American Public Health Association; 2012, 1360 pp. ISBN 978-087553-013-0
- BATSTONE, D.J., KELLER, J., NEWWLL, R.B., NEWLAND, M. “Modelling anaerobic degradation of complex wastewater I: model development”, *Bioresoure Technology*, vol. 75, pp. 67-74, 2000.
- BERTOLINO, S.M.; CARVALHO, C.F.; AQUINO. Caracterização e biodegradabilidade aeróbia e anaeróbia dos esgotos produzidos em Campus universitário. *Revista Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental*, v.13, n. 3, p. 271-277, 2008.
- BIAZUS, J. P. M.; SANTANA, J. C. C.; SOUZA, R. R. de. Modelagem empírica do processo de biodegradação de efluentes protéicos por enzimas de *Carica papaya* sp. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, vol.10, n.2, pp. 436-440, 2006.
- BOLETIM NOVOZYME A/S, LIPOLASE 100L, B434d-GB500, Bagsvaerd-Denmark, 2001.
- BON, E. P. S.; PEREIRA Jr., N. Tecnologia enzimática. Rio de Janeiro: E.P.S. Bon, 1999. 110 p.
- BORNSCHEUER, U.T., 2002, “Microbial carboxyl esterases: classification, properties and application in biocatalysis”, *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 26, pp. 73-81, 2002.
- BOUWER, L., MURTO, M., JANTTSCH T.G., MATTIASSON B., Evaluation of new methods for the monitoring of alkalinity, dissolved hydrogen and the microbial community in anaerobic digestion. *Water Research*, v.35, n.12, p. 2833-2840, 2001.

- BRADY, L. BRZOZOWSKI, A. M. DEREWENDA, Z. S. DODSON, E. DODSON, G., TOLLEY, S. TURKENBURG, J. P., CHRISTIANSEN, C., HUGE-JENSE, B., NORSKOV, L. E., MENGE, U. A serine protease triad forms the catalytic of a triacylglycerol lipase. *Nature*, v.343, p.767-770, 1990.
- BUENO, T. *Obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados por hidrólise enzimática do óleo de soja*. Lorena: Faculdade de Engenharia Química da USP. 2005.115p. (Dissertação, Mestrado em Engenharia Química).
- CAIL, R. G.; BARFORD, J. P.; LICHACZ, R. Anaerobic digestion of wool scouring wastewater in a digester operated semi-continuously for biomass retention. *Agricultural Wastes*, v.18, n.1, p.27-38, 1986.
- CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. M. A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewaters with high oil and grease content. *Bioresource Technology*, v. 97, n. 17, p. 2195-2210, 2006.
- CAMMAROTA, M. C.; TEIXEIRA, G. A.; FREIRE, D. M. G. Enzymatic pre-hydrolysis and anaerobic degradation of wastewaters with high fat contents. *Biotechnology Letters*, v. 23, n. 19, p. 1591-1595, 2001.
- CAMPBELL, M. K.; *Bioquímica*, 3ª ed., Artmed Ed. Ltda: Porto Alegre, 2000.
- CANDIDO, L.C. (2001). Nova abordagem no tratamento de feridas. Ed. Senac. São Paulo, 282p.
- CARO Y, VILLENEUVE P, PINA M, REYNES M, GRAILLE J. Investigation of crude latex from various *Carica papaya* varieties for lipid bioconversion. *J Am Oil Chem Soc.*, v. 77, p. 891-901, 2000.
- CASTRO, H. F. MENDES, A. A, URIOSTE, D., CASTRO, H. F. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. *Química Nova*, v.27, p.146-156, 2004.
- CHAIWUT, P.; NITSAWANG, S.; SHANK, L.; KANASAWUD, P. A Comparative Study on Properties and Proteolytic Components of Papaya Peel and Latex Proteases. *Chiang Mai J. Sci.* v.34, n.1, 2007.
- CHAMPE, P.C., HARVEY, R.A. *Bioquímica ilustrada*. 2.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1996. 446p.
- CHENG, Y.; TSAI, S. *Carica papaya* lipase: An effective biocatalyst for esterification resolution of (RS)-2-(chlorophenoxy) propionic acid. v.35, n.3, p.318-324, 2007.
- CHERNICHARO, C. A. L. *Reatores anaeróbios*. 1 ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2 ed., 2007. 246p.
- CHERNICHARO, C.A. L.; ALMEIDA, P.G.S.; COUTO T.C.; SOUZA, C.L.; BORGES, J. M. Contribuição para a melhoria do projeto e da operação de reatores UASB tratando esgotos domésticos: gerenciamento da espuma. In: Anais do 25º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Recife PE. 2009.
- CHERNICHARO, C.A. L., ALMEIDA, P.G.S., LOBATO, L.C.S., COUTO, T.C. AND BORGES, J.M. Experience with the design and start up of two full-scale UASB plants in Brazil: enhancements and drawbacks. *Water Science and Technology*, v.60, n.2, p. 507-515, 2009
- CHIPASA, K.B., MEDRZYCKA K. Behavior of lipids in biological wastewater treatment process, *Review in: J. Ind. Microbiology Biotechnology*. v.33, p. 635 – 645, 2006.

- CIRNE D.G., PALOUMET X., BJÖRNSSON L., ALVES M.M. & MATTIASSON B. Anaerobic digestion of lipid-rich waste-Effects of lipid concentration. *Renewable Energy*, v. 32:965, 2007.
- COSTA, V.E.U.; AMORIN, H.L. O emprego de lipases como agentes de resolução cinética de enantiômeros em síntese orgânica: aspectos gerais sobre a influência do solvente. *Química Nova*, v.22, n.6, p.863-873, 1999.
- CRECCHIO, C., RUGGIERO, P. e PIZZIGALLO, M.D.R., “Polyphenolosidases immobilized in organic gels: Properties and Applications in the detoxification of aromatic compounds”, *Biotechnol. and Bioeng.*, v.48, pp. 585-591, 1995.
- DIXON, M.; WEEB, E. C. *Enzymes*. 2.ed., London: Longman Group Ltd, p.246-750, 1971.
- DOKIN, M.J. Bulking in aerobic biological systems treating dairy processing wastewaters. *International Journal of Dairy Technology*, v. 50, n. 2, p. 67-72, 1997.
- DORS, G Hidrólise enzimática e biodigestão de efluentes da indústria de produtos avícolas. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Catarina, 2006.
- DURÁN, N., ESPOSITO, E. “Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review”, *Applied Catalysis B: Environmental*, vol. 28, pp. 83-99, 2000.
- ELBESHBISHY, E.; NAKHLA, G.; HAFEZ, H. Biochemical methane potential (BMP) of food waste and primary sludge: Influence of inoculum pre-incubation and inoculum source.(Report). *Bioresource Technology*, v.110, p.18, 2012. ISSN 0960-8524.
- FAAIJ, A.; VAN REE, R.; WALOHEIML.; OLSON, E.; OUOHUISA.; VANW IJK, A.; DAEY-OUWENCS.; TURKENBERWG. Gasification of biomass wastes and residues for electricity production. *Biomass and Bioenergy*. v. 12,(6), p.387, 1997.
- FONTS, I.; AZURA, M.; GEA, G.; MURILLO, M.B. Study of the pyrolysis liquids obtained from different sewage sludge. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, v. 85, p. 184–191, 2009.
- FREIRE, D.M.G; TELES, E.M.F; BON, E.P.S; SANTANNA, Jr.G.L. Lipase production by *Penicillium restrictum* in a laboratory-scale fermenter: media composition, agitation and aeration. *Appl. Biochem. Biotechnol.* v. 63, p.409–421, 1997.
- FREIRE, D.M.A.; CASTILLIO, L.R. Lipases em biocatálise, produção, aplicações e mercado. *Enzimas em biotecnologia: Produção, aplicação e mercado*; BON, E. P. S.; FERRARA, M. A.; CORVO, M. L.; VERMELHO, A. B.; PAIVA, C. L. A.; ALENCASTRO, R. B.; COELHO, R. R. R., Ed. Interciência: Rio de Janeiro, 2008. p.506.
- GALBRAITH, H.; MILLER, T. B. Physicochemical effects of long chain fatty acids on bacterial cells and their protoplasts. *Journal of Applied Bacteriology*, v. 36, p.647-658, 1973.
- GANDHI, N.N.; MUKHERJEE, K.D. Synthesis of papaya lipase in esterification of aliphatic alcohols – a comparison with microbial lipases. *J. Am Oil Chem Soc*, v.78, p. 161-165, 2001.
- GARCIA, G. P. P. Caracterização dos Microrganismos Oxidadores de Sulfeto e Metano em Reator UASB. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Escola de Engenharia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.
- GELEGENIS, J.; GEORGAKAKIS, D.; ANGELIDAKI, I.; CHRISTOPOLOU, N.; GOUMENAKI, M. Optimization of biogas production from olive-oil mill wastewater, by codigesting with diluted poultry-manure. *Applied Energy*. n.88, p.646-663, 2007.

- GERARDI, M. H. *The Microbiology of Anaerobic Digesters*. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2003. 177p.
- GIORDANI, R.; MOULIN, A.; VERGER, R. Tributyrilglycerol hydrolase activity in *Carica papaya* and other latices. *Phytochemistry*, v.30 : 1069-72, 1991.
- GONÇALVES, R.F.; LUDUVICE, M.; VON SPERLING, M. – Capítulo 5: Remoção de umidade de lodos de esgotos - In: Andreoli, C. V. (Coord.) – Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – Vol. 6: Lodo de esgoto: tratamento e disposição final – Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UFMG; Companhia de Saneamento do Paraná, 2001. 484p
- GROSS, R. Hidrólise enzimática de gorduras de origem animal. Dissertação de Mestrado. Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 1996, 63p.
- HALALSHEH, M.; KOPPEL, J.; DEN ELZEN, J.; ZEEMAN, G.; FAYYAD, M.; LETTINGA, G. Effect of SRT and temperature on biological conversions and the related scum-forming potencial. *Water Research*, v. 39, p. 2475 – 2482, 2005.
- HANAKI, H. *et al.* Mechanism of inhibition caused by long chain fatty acids in anaerobic digestion processes. *Biotechnol. Bioeng.* v. 23, p. 1591-1610, 1981.
- HAYASHI, T.; HYON, S.H.; CHA, W.I.; IKADA, Y. "Immobilization of thiol proteases onto porous poly (vinyl alcohol) beads". *Polym. J.*, v.25, p.489-497, 1993.
- HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. "Industrial applications of microbial lipases". *Enzyme and Microbial Technology*, New York, v. 39, p. 235-251, 2006.
- HOUDKOVA, L.; BORAN, J.; UCEKAJ, V.; ELSASER, T.; STEHLIK, P. Thermal processing of sewage sludge – II. *Applied Thermal Engineering*. v. 28, p.2.083–2.088, 2008.
- HU, W.C. THAYANITHY, FORST, C.F. A kinetic study of anaerobic digestion of ice-cream wastewater. *Process Biochemistry*, v.37, p. 965-971, 2002.
- HWU, C.S., TSENG, S.K.; YUAN, C.Y.; KULIK, Z.; LETTINGA, G. Biosorption of long-chain fatty acids in UASB treatment process. *Water Research*, v.32, p. 1571-1579, 1998.
- IBRAF – Instituto Brasileiro de Frutas. Estatísticas. In: <http://www.ibraf.org.br> . Consulta em 12/07/2012.
- I-SON N., TSAI, S.W. Investigation of lipases from various *Carica papaya* varieties for hydrolysis of olive oil and kinetic resolution of (R,S)-profen 2,2,2-trifluoroethyl thioesters. *Process Biochemistry*, v. 41, n.3, p. 540-546, 2006.
- JAEGER, K.E.; REETZ, M.T. Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. *Trends Biotechnol.* v. 16, p. 396-403, 1998.
- JAEGER, K.E.; DIJKSTRA, B.W.; REETZ, M.T. Bacterial biocatalysts: molecular biology, three-dimensional structures and biotechnological applications of lipases. *Ann. Rev. Microbiol.*, v. 53, p.315-351, 1999.
- JAEGER, K. E.; EGGERT, T. Lipases for biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, London, v. 13, p. 390-397, 2002.
- JEGANATHAN, J., NAKHLA, G., BASSI, A., "Oily wastewater treatment using a novel hybrid PBR-UASB system", *Chemosphere*, vol. 67, pp. 1492-1501, 2007.
- JORDÃO, E. P. e PESSÔA, C. A. Tratamento de esgotos domésticos. Rio de Janeiro: ABES, 3. ed. 1995.

- JORDÃO, EDUARDO PACHECO; PESSÔA, CONSTANTINO ARRUDA. Tratamento de esgotos domésticos; ed. 4. Rio de Janeiro, 2005. 932 p.
- JUNG, F., CAMMAROTA, M.C., FREIRE, D.M.G. Impact of enzymatic pre-hydrolysis on batch activated sludge systems dealing with oily wastewaters, *Biotechnology Letters*, v. 24, 1797-1802, 2002.
- KARAM, J., NICELL, J.A., Potential applications of enzymes in waste. *Journal Chemical Technology Biotechnology*, v.69, p.141-153, 1997.
- KARLSSON, I. "Carbon source for denitrification from precipitated sludge", In: Hahn, H.H., Klute, R., *Chemical water and wastewater treatment*, Springer, Berlim, 1990.
- KIELING, D. D. Enzimas: Aspectos Gerais. Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.
- KOLOSSVÁRY, G.J. Optimization of lipase activity from *Rhizopus* sp. In triglyceride hidrolisis using a modified simplex method. *Process Biochemistry*, v.31, n.6, p. 595-600, 1996.
- LANSING, S.; MARTIN, J.F.; BOTERO, R.B.; et al. Methane production in low-cost, unheated, plug-flow digesters treating swine manure and used cooking grease. *Bioresource Technology*. n.101, p.4362-4370, 2010.
- LAUBSCHER, A. C. J.; WENTZEL, M. C.; LE ROUX, J. M. W.; EKAMA, G. A. Treatment of grain distillation wastewaters in an upflow anaerobic sludge bed (UASB) system. *Water SA*, v. 27, n. 4, p. 433 – 444, 2001.
- LEAL, M. C. C. R. Utilização de enzimas hidrolíticas no tratamento de resíduos da indústria de laticínios. Tese Mestrado em Ciências, Engenharia Química, COPPE/UFRJ, 2000.
- LEAL, M. C. C. R *et al.* Hydrolytic enzymes as coadjuvants in the anaerobic treatment of dairy wastewaters. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v.19, p.175-180, 2002.
- LEAL, M.C.M.R., CAMMAROTA, M.C., FREIRE, D.M.G., SANT'ANNA Jr., G.L. "Effect of enzymatic hydrolysis on anaerobic treatment of dairy wastewater", *Process Biochemistry*, vol. 41, pp. 1173-1178, 2006.
- LEITÃO, R.C. *Robustness of UASB reactors treating sewage under tropical conditions. Ph.D. Thesis.* Wageningen University, The Netherlands, p. 160, 2004.
- LETTINGA, G., HULSHOFF POL, L.W. UASB - Process design for various types of wastewaters. *Water Science Technology*, v. 24, n. 8, p. 87-107, 1991.
- LI, F.Y; XING, Y.J.; DING, X.. "Immobilization of papain on cotton fabric by sol-gel method". *Enzyme and Microbial Technology*, v.40, p.1692-1697, 2007.
- LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W. *Biotecnologia industrial*. Processos fermentativos e enzimáticos. 1.ed., v.01, São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2001, p.367-371.
- LOPES, R. P.; SOBRINHO, J. C.; SILVA, J. S.; NOGUEIRA, S. J. Fontes de energia para secagem de café. *Boletim técnico* n.3, Universidade Federal de Viçosa, 2001, p. 29.
- MAHMOUD, N.; ZEEMAN, G.; GIJZEN, H.; LETTINGA, G. Solids removal in upflow anaerobic reactor, a review. *Bioresource Technology*, v. 90, p. 1 –9, 2003.
- MASSE, L., MASSE', D.I., and KENNEDY, K.J. Effect of hydrolysis pretreatment on fat degradation during anaerobic digestion of slaughterhouse wastewater. *Process Biochem.* 38, 1365, 2003.

- MASSE, L.; KENNEDY, K.J; CHOU, S. Testing of alkaline and enzymatic hydrolysis pretreatments for fat particles in slaughterhouse wastewater. *Bioresour. Technol.* 77: 145–155, 2001.
- MENDES, A. A. Avaliação da biodegradabilidade de efluentes com alto teor de lipídeos previamente tratados com enzimas hidrolíticas. 2004. 135 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2004.
- MENDES, A. A.; CASTRO, H. F. Aplicação de lipases no tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos. *Química Nova*, v. 28, n. 2, p.296–305, 2005.
- MENDES, A. A.; PEREIRA, E. B.; CASTRO, H. F. Effect of enzymatic hydrolysis pretreatment of lipids-rich wastewater on anaerobic biodegradation. *Biochemical Engineering Journal*, v. 32, n. 3, p. 185-190, 2006.
- MERÇON, F. Hidrólise enzimática de óleo de babaçu em reatores com membrana. Rio de Janeiro, 1995. 73p. (Tese de doutorado). Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- METCALF e EDDY. INC. Wastewater Engineering treatment Disposal Reuse. 4. ed. New York, McGraw - Hill Book, 2003, 1815p.
- MEZHLUMYAN, L.G.; KASYMOVA, T.D.; YULDASHEV, P.KH. "Proteinases from *Carica papaya* LATEX". *Chemistry of Natural Compounds*, v.39, n.3, p.223-228, 2003.
- MIKI, M. K. Dilemas do UASB. Seção — Práticas operacionais e de Empreendimento. Revista DAE, n.183, p. 25-37, 2010.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Política Nacional de Resíduos Sólidos. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/pol%C3%ADtica-de-res%C3%ADduos-s%C3%B3lidos>. Acesso em: 15/12/2014.
- MOZAFFAR, Z.; WEETE, J. D.; DUTE, R. Influence of surfactants on an extracellular lipase from *pythium-ultimum*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 71, n. 1, p. 75-79, 1994.
- MUKHERJEE, K. D. Plant lipases and their application in lipid biotransformations. *Prog Lipid Res*, v. 33, p.165-174, 1994.
- MUSSATTO, S. M.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A. M. F. Enzimas: poderosa ferramenta na indústria. *Ciência Hoje*, v. 41, n.º 242, 2007.
- NOGUEIRA, L.A.H.; LORA, E.E.S. Dendroenergia: fundamentos e aplicações. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2003. 200 p.
- NOYOLA, A., MORGAN-SAGASTUME, J.M.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, J.E. Treatment of biogas produced in anaerobic reactors for domestic wastewater: odour control and energy/resource recovery. *Reviews in Environmental Sciences and Bio/Technology*. v.5, p. 93-114. 2006.
- OLIVEIRA, L.B. “Potencial de Aproveitamento Energético de Lixo e Biodiesel de Insumos Residuais no Brasil”. Tese (Doutorado em Ciências em Planejamento Energético) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE. Rio de Janeiro, 247 p, 2004.
- OLIVEIRA, A. B.M; ORRICO, A. C. A.; ORRICO JUNIOR, M. A. P.; SUNADA, N. S.; CENTURION. Biodigestão anaeróbia de efluente de abatedouro avícola. *Rev. Ceres*, v.58, n.6, p.690-700, 2011.

- OLIVEIRA, J.P.P.; ANTUNES, A.W.R.P.; PINOTTI, B.L.M.; CASSINI, A.S.T.A. Caracterização físico-química de resíduos oleosos do saneamento e dos óleos e graxas extraídos visando a conversão em biocombustíveis. *Química Nova*, v. 37, n. 4, p.597-602, 2014.
- PAGLIUSO, J. D.; PASSIG, F. H.; VILLELA, L. C. H. Odour treatment and energy recovery in anaerobic sewage treatment plants. In: VII OFICINA E SIMPOSIO LATINOAMERICANO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA, Mérida, Yucatán - México. IWA/FEMISCA, 2002, p. 553 – 560.
- PAGILLA, K. R.; CRANEY, K. C.; KIDO, W. H. Causes and effects of foaming in anaerobic sludge digesters. *Water Science and Technology*, v. 36, n.6, 463-470, 1997.
- LETTINGA, G., HULSHOFF POL, L.W. UASB - Process design for various types of wastewaters. *Water Science Technology*, v. 24, n. 8, p. 87-107, 1991.
- PAQUES, F.W.; MACEDO, G.A. "Lipases de látex vegetais: Propriedades e Aplicações Industriais". *Química Nova*, v.29, n.1, p.93-99, 2006.
- PARK, Y.K., PASTORE, G.M. Esterificação de ácidos graxos por lipases microbianas. *Ciênc. Tecnol. Alimentos*, v. 9, n. 2, p. 163-171, 1989.
- PEÑA, M. R., MARA, D. D., AVELLA, G. P. Dispersion and treatment performance analysis of an UASB reactor under different hydraulic loading rates. *Water Research*, v.40, p. 445-452, 2006.
- PEREBOON, J. H. F. Size distribution model for methanogenic granule development in full scale UASB and IC reactors. *Water Science Technology*, v.30, n. 12, p. 211–221, 1994.
- PEREIRA, E.B. DE CASTRO H.P, FURIGO Jr. A. Hidrólise enzimática do efluente proveniente de frigorífico avícola utilizando lipases de *Candida rugosa*. *SINAFERM-XIV Congresso Nacional de Fermentações*, UFSC-EQA, Florianópolis/SC, 2003.
- PEREIRA, E.B. Tratamento enzimático para remoção de gorduras dos resíduos gerados por indústrias de produtos avícolas. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2004, 171p.
- PEREIRA, M.A., SOUSA, D.Z., MOTA, M., and ALVES, M.M. Mineralization of LCFA associated with anaerobic sludge: kinetics, enhancement of methanogenic activity, and effect of VFA. *Biotechnol. Bioeng.* v.88, p.502-511, 2004.
- PEREIRA, M.A; PIRES, O.C.; MOTA, M. ALVES, M.M. Anaerobic biodegradation of oleic and palmitic acids: evidence of mass transfer limitations caused by long chain fatty acid accumulation onto the anaerobic sludge. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 92, n. 1, 2005.
- PEREIRA, J. O. Controle da formação de espuma e remoção de matéria orgânica em reator UASB com duplo estágio de coleta de biogás. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Escola de Engenharia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2007, 67p.
- PEREIRA, J.O., CELANI, J.S.S. AND CHERNICHARO, C.A.L. Control of scum accumulation in a double stage biogas collection (DSBC) UASB reactor treating domestic wastewater. *Water Science and Technology*, v. 59, n.6, p.1077- 1083, 2009.
- PEREIRA, J. O. Desenvolvimento de um reator UASB com duplo estágio de coleta de biogás (DECB), aplicado ao tratamento de esgoto sanitário, objetivando o controle da espuma e a granulação do lodo. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Escola de Engenharia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2012, 187p.

- PERLE, M. KIMCHIE, S., SHELEF, G. “Some biochemical aspects of the anaerobic degradation of dairy wastewater”, *Water Research*, vol. 29, pp.1549-1554, 1995.
- PETRUY R. LETTINGA G. Digestion of a milk-fat emulsion. *Bioresource Technology*, v. 61, p.141-149, 1997.
- PINHEIRO, G. F.; RENDEIRO, G.; PINHO, J. T. Densidade energética de resíduos vegetais. *Biomassa & Energia*. v. 2, n. 2, p. 113-123, 2005.
- RAMOS, R. A. Avaliação da influência da operação de descarte de lodo no desempenho de reatores UASB em estações de tratamento de esgotos no Distrito Federal. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Universidade de Brasília, 135p, 2008.
- RAMOS, R.A; NEDER, K.D.; QUEIROZ, T.R.; PAULA, R.B.; SOUZA, M.A.A. Avaliação das rotinas operacionais e de manutenção em reatores UASB: o caso das estações de tratamento de esgotos no Distrito Federal do Brasil. *Revista Aidis*, v. 3, n. 1, p.108 –119 2010.
- RIGO, E. Aplicações de lipases como auxiliar no pré-tratamento de efluentes de frigoríficos de suínos e bovinos. Dissertação (Mestrado), URI, Erechim, RS, 2004.
- RIGO, E. RIGONI, R.E., LODEA, P., OLIVEIRA, D. FREIRE, D.M.G., TREICHEL, H. LUCCIO, M.D. Comparison of Two Lipases in the Hydrolysis of Oil and Grease in Wastewater of the Swine Meat Industry. *Ind. Eng. Chem. Res.*, v.47, n.6, p 1760–1765, 2008.
- RIGONI, R. E.; RIGO, E.; FREIRE, D.M.G.; De OLIVEIRA, D.; Di LUCCIO, M. Utilização de lipases como auxiliar na degradação de gordura do flotado de indústria de carnes. CD-ROM - XIV SIMPOSIO NACIONAL DE FERMENTACOES - SINAFERM, 2003, Florianópolis Anais do congresso, Florianópolis UFSC-Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.
- RINZEMA, A., BOONE, M., VAN KNIPPENBERG, K, LETTINGA, G. “Bactericidal effect of long chain fatty acids in anaerobic digestion”, *Water Environmental Research*, vol. 66, pp.40-49, 1994.
- RIVERA, I.; SANDOVAL, G. Caracterización de diversas fracciones Del látex Carica papaya como biocatalizadores em la hidrólisis de triglicéridos. *Grasas y Aceites*, v.65, n.1, p. 1-8, 2014.
- ROBLES, A.; LUCAS, R.; CAÑAMERO, M.M.; OMAR, N.B; PÉREZ, R; CIENFUEGOS, R.; GÁLVEZ, A. Characterisation of laccase activity produced by the hyphomycete *Chalara* (syn. *Thielaviopsis*) *paradoxa* CH32, *Enzyme and Microbial Technology*, v.31, p.516–522, 2002.
- RODRIGUES, J.P; ORRICO, A.C.A.; ORRICO JUNIOR, M. A.P.; SENO, L.O.; ARAÚJO, L.A.; SUNADA, N.S. Adição de óleo e lipase sobre a biodigestão anaeróbia de dejetos suínos. *Ciência Rural*, v.44, n.3, 2014.
- ROSA, D.R., DUARTE, I.C.S., SAAVEDRA, N.K., VARESCHE, M.B., ZAIAT, M., CAMMAROTA, M.C., and FREIRE, D.M.G. Performance and molecular evaluation of an anaerobic system with suspended biomass for treating wastewater with high fat content after enzymatic hydrolysis. *Bioresour. Technol.* 100, 6170, 2009.
- ROSA, A.P.; MARTINS, D.C.R.B; DE ALMEIDA, P.G.S; VENTURA, CHERNICAHRO, C.A.L. Estabelecimento de rotina operacional para remoção de espuma nos reatores UABS da ETE Laboreaux – Itabira/MG. In: Anais do 26º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Porto Alegre. 2011.



- ROSA, A.P., LOBATO, L.C.S., CHERNICHARO, C.A.L., MARTINS, D.C.R.B, MACIEL, F.M. AND BORGES, J.M. Improving performance and operational control of UASB reactors via proper sludge and scum discharge routines. *Water Practice Technology*, v.7, n.3, 2012.
- ROSA, A.P. Aproveitamento de biogás e lodo excedente de reatores UASB como fonte de energia renovável em estações de tratamento de esgoto. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, 2013, 172p.
- RUSTON, B., Chemical pretreatment of dairy wastewater. *Water Science and Technology* v. 28, n.2, p. 67-72, 1993.
- SANGEETHA, K.; ABRAHAM, T.E.. "Chemical modification of papain for use in alkaline medium". *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v.38, p.171-177, 2006.
- SANTOS, S.E. Avaliação do desempenho operacional de um sistema reator UASB – Lagoa de polimento, Estudo de caso da ETE Juramento-MG. 133f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 133p, 2003.
- SATO, N., OKUBO, T., OHASHI, A., HARADA, H. Prospects for a self-sustainable sewage treatment system: A case study on full-scale UASB system in India's Yamuna River Basin. *Journal of Environmental Management*, v. 80, p. 198–207, 2006.
- SAXENA, R.K., GHOSH, P.K., GUPTA, R. "Microbial lipases: potencial biocatalysts for the future industry", *Current Science*, vol. 77, pp. 101-115, 1999.
- SAXENA, R.K.; SHEORAN, A.; GIRI, B.; DAVIDSON, S.W. Purification strategies for microbial lipases. *J. Microbiol. Methods*, v. 52, p. 1-18, 2003.
- SCHELLINKHOUT, A.COLLAZOS C.J., Full-scale application of the UASB technology for sewage treatment. *Water Science and Technology*. v.25, n.7, p. 159–166, 1992.
- SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U.C. Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnol. Adv.*, v. 19, p. 627-662, 2001.
- SOUZA, C.L. Estudo quantitativo e qualitativo de espuma acumulada em reatores UASB tratando esgotos domésticos. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, 2006, 100p.
- SOUZA, C.L., SILVA, S.Q., AQUINO S.F., CHERNICHARO C.A.L. Production and characterization of scum and its role in odour control in UASB reactors treating domestic wastewater, *Water Science Technology*, v. 54, n. 9, p. 201-208, 2006.
- TEXEIRA, A.R. CHERNICHARO, C.A.L. Concepção e avaliação de uma unidade de peneiramento forçado para a redução do tamanho de partículas presentes no esgoto bruto doméstico. *Revista Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental*, v.14, n.3. pg 307-306, 2009.
- VALENTE, A.M.; ALEXANDRE V.M.; CAMMAROTA, M.C. Pré-hidrólise enzimática de gordura de efluente da indústria de pescado objetivando o aumento da produção de metano. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas-SP, v.30, p.483-488, abr.-jun 2010.
- VALLADÃO, A.B.G., FREIRE, D.M.G., CAMMAROTA, M.C. "Enzymatic pre-hydrolysis applied to the anaerobic treatment of effluents from poultry slaughterhouses", *International Biodeterioration Biodegradation*, vol. 60, pp.219-225, 2007.

- VALLADÃO, A.B.G., TORRES, A.G.; FREIRE, D.M.G., CAMMAROTA, M.C. Profiles of fatty acids and triacylglycerols and their influence on the anaerobic biodegradability of effluents from poultry slaughterhouse, *Bioresource Technology*, v.02 p.7043–7050, 2011.
- VAN HAANDEL, A.; LETTINGA, G. Tratamento anaeróbio de esgoto. Um manual para regiões de clima quente. ed. Campina Grande, Brasil: Universidade Federal da Paraíba, 1994.
- VAN LIER, J. High-rate anaerobic wastewater treatment: diversifying from end-of-the-pipe treatment to resource-oriented conversion techniques. *Water Science and Technology*, v.57, n. 8, p. 1137-1148, 2008.
- VAN LIER, J.B.; VASHI, A.; VAN DER LUBBE, J.; HEFFERNAN, B. Anaerobic sewage treatment using UASB reactors: Engineering and operational aspects. In: Fang, H.H.P. (Editor) *Environmental anaerobic technology: applications and new developments*; Imperial College Press -London-UK. p 59-87, 2011.
- VEIGA, A.A. Biodegradação de gordura em efluente através da adição controlada de enzimas e micro-organismos em reatores aeróbios em série. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.
- VERSIANI, B.M. Desempenho de um reator submetido a diferentes condições operacionais tratando esgotos domésticos do campus da UFRJ. Dissertação (Mestrado em engenharia civil) Universidade Federal do Rio de Janeiro (COPPE/UFRJ) Rio de Janeiro, 2005, 78p.
- VICENZI, R. (2004). Biotecnologia de Alimentos. Universidade Regional do Noroeste do Estado do RS, UNIJUI, 101p. Disponível em “[www.sinprors.org.br/paginasPessoais/arquivos/Prof\\_394/APOSTILA%20BIOTECNOLOGIA%20DE%20ALIMENTOS.pdf](http://www.sinprors.org.br/paginasPessoais/arquivos/Prof_394/APOSTILA%20BIOTECNOLOGIA%20DE%20ALIMENTOS.pdf)”. Acesso em: 30/08/2011.
- VIDAL, G.; CARVALHO, A.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M. Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters. *Bioresource Technology*, v. 74, p. 231 – 239, 2000.
- VILLENEUVE, P. Plant lipases and their applications in oils and fats modification. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v.105, n.6. p.308-317, 2003.
- VON SPERLING, M. & CHERNICHARO, C.A.L. Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions. IWA Publishing, London, 2005.
- VON SPERLING, M. Princípio do tratamento biológico de águas residuárias – Lodos ativados. Departamento de engenharia sanitária e ambiental – DESA/UFMG, Belo Horizonte, v. 4, p. 428, 1997.
- VULFSON, E. N. Industrial applications of lipases. In: Woolley, P.; Petersen, S.B. (eds) *Lipase: Their Structure, Biochemistry and Application*, Cambridge University Press, Great Britain, p. 271-288, 2004.
- WATANABE, N.; OTA, Y.; MINODA, Y.; YAMADA, K. Isolation and identification of alkaline lipase producing microorganisms, cultural conditions and some properties of crude enzymes. *Agric. Biol. Chem.*, v. 41, p. 1353-1358, 1977.
- YODA, M.; NISHIMURA, S. Controlling granular sludge floatation in UASB reactors. *Water Science and Technology*, v. 36, n.6, 165-173, 1997.
- ZANOTTO, S. P. Utilização de enzimas e micro-organismos para a obtenção de compostos oticamente ativos. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, SC, Brasil, 2003.123p.

ZAWADZKI, R. A. F. O. Desenvolvimento de processo contínuo de pré-hidrólise enzimática de efluente com elevado teor lipídico. Dissertação. (Mestrado em Ciências) Universidade Federal do Paraná, 2011, 79p.

ZEEMAN, G.; SANDERS, W. Potential of anaerobic digestion of complex waste (water). *Water Science and Technology*, v. 44, n. 8, p. 115 – 122, 2001.

## 12. APÊNDICES

### Apêndice 12.1 Propriedades e características das enzimas comerciais utilizadas

Enzimas	Lipolase 100L	Papaína crua (P 4762)
Forma	Líquido, enzima purificada	Sólido, enzima livre
Porosidade	-	Granulado, marrom
Massa molecular	39 kDa	23,406 kDa
Massa específica	1,2g/mL	NI*
Especificidade	Reações de hidrólise de triglicerídeos: mono e diglicerídeos, glicerol e ácidos graxos livres	Cliva as ligações de aminoácidos, leucina e glicina. Hidrolisa os ésteres e amidas.
pH ótimo	7-11	9
Temperatura de atuação	30-40°C	NI*
Atividade	100 KLU/g	10U/mg proteína
Referência	Novozymes, 2001	Sigma, 2012

\*NI – Não informado pelo fabricante

**Apêndice 12.2** Solução de macro e micronutrientes

Solução (*)	Reagentes P.A.	Concentração (mg/l)	Finalidade
1	NaHCO <sub>3</sub>	1.000	Tampão
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	650	
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	150	
	NH <sub>4</sub> Cl	500	Macronutriente
	MgCl <sub>2</sub>	100	
	CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	100	
	Na <sub>2</sub> S. 7H <sub>2</sub> O	50	
	Extrato de levedura	50	
2	FeCl <sub>3</sub> . 6H <sub>2</sub> O	2,0	Micronutriente
	ZnCl <sub>2</sub>	0,05	
	CuCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0,03	
	MnCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0,5	
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> .Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,05	
	AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,05	
	CoCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	2,0	
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,01	

## Notas:

- A solução 2 deve-se adicionar 1 mL/L de HCl concentrado, para evitar a formação de precipitados.
- No momento de utilização das soluções, adicionar 1ml da solução 2 a 1 litro da solução 1, compondo uma solução única, que deverá ser adicionada aos frascos de reação.

Fonte: CHERNICHARO (2007).

**Apêndice 12.3** Cálculo do volume das enzimas comerciais para cada concentração estudada

<p><b>Lipolase 100L</b></p> <p>Massa = 1,2 g/mL</p> <p>Volume útil dos frascos reatores = 77 mL (70% do volume do frasco de 110 mL)</p>	<p>Fixando 1 mg por mL</p> <p><math>C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2</math></p> <p><math>1,2 \cdot V1 = 0,01 \cdot 77 \text{ mL}</math> (70% do volume dos frascos reatores)</p> <p><math>V1 = 0,77/1,2</math></p> <p><b>[1%]</b> = 0,64 mL de enzima Lipolase 100L em volume de 77mL contendo a mistura com substrato (escuma) e inoculo (lodo anaeróbico)</p> <p><b>[0,5%]</b> = <math>0,64/2 = 0,32</math> mL de enzima para um volume de 77 mL</p> <p><b>[5%]</b> = <math>0,64 \cdot 5 = 3,2</math> mL de enzima Lipolase 100L para um volume de 77mL</p>
<p><b>Papaína crua</b></p> <p>Solução: 0,5; 1 e 5 de papaína</p> <p>Volume útil dos frascos reatores = 77 mL (70% do volume do frasco de 110 mL)</p>	<p>Fixando 1 mg por mL</p> <p><b>[0,5%]</b> = 0,5g de papaína diluída em 100 mL de água deionizada;</p> <p><b>[1%]</b> = 1g de papaína diluída em 100 mL de água deionizada;</p> <p><b>[5%]</b> = 5g de papaína diluída em 100 mL de água deionizada;</p> <p>Utilizou-se 1 mL das diferentes soluções preparadas para cada mistura de 77 mL contendo escuma e lodo anaeróbico.</p>