

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS VEGETAIS E
ESGOTO SANITÁRIO EM REATORES HORIZONTAIS DE
LEITO FIXO E ALTA TAXA**

**Luan Vieira Adames
Biólogo**

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS VEGETAIS E
ESGOTO SANITÁRIO EM REATORES HORIZONTAIS DE
LEITO FIXO E ALTA TAXA**

Luan Vieira Adames

Orientador: Prof. Dr. Roberto Alves de Oliveira

Coorientadora: Profa. Dra. Rose Maria Duda

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do Título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

2017

Adames, Luan Vieira

A197c Co-digestão anaeróbia de resíduos vegetais e esgoto sanitário em reatores horizontais de leito fixo e alta taxa / Luan Vieira Adames. -- Jaboticabal, 2017

vii, 71 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017

Orientador: Roberto Alves de Oliveira

Coorientadora: Rose Maria Duda

Banca examinadora: Edson Aparecido Abdul Nour, Valderi Duarte Leite

Bibliografia

1. Metano. 2. Remoção de matéria orgânica. 3. Hidrólise. 4. Coliformes termotolerantes. 5. Recirculação de efluente. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 576.8:661.9

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

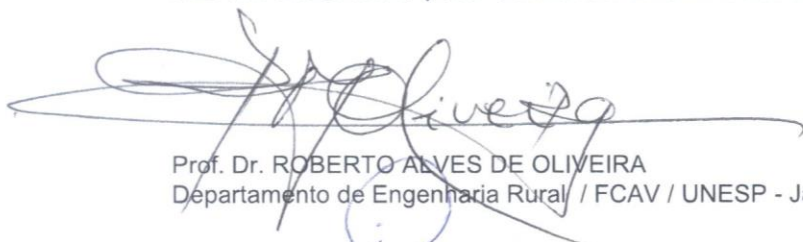
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS VEGETAIS E ESGOTO SANITÁRIO EM REATORES HORIZONTAIS DE LEITO FIXO E ALTA TAXA

AUTOR: LUAN VIEIRA ADAMES

ORIENTADOR: ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA

COORIENTADORA: ROSE MARIA DUDA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA
Departamento de Engenharia Rural / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. VALDEIRI DUARTE LEITE
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental / Universidade Estadual da Paraíba / Campina Grande/PB



Prof. Dr. EDSON APARECIDO ABDUL NOUR
Departamento de Saneamento e Ambiente / UNICAMP / Campinas/SP

Jaboticabal, 19 de julho de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Luan Vieira Adames – Filho de Luis Adames e Maria Lucia Vieira Adames, nascido na cidade de Olímpia, no estado de São Paulo, no dia 30 de novembro de 1987. Graduado em licenciatura e bacharelado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário UNIFAFIBE em Bebedouro – SP, em dezembro de 2011. Em 2010 realizou estagio curricular em laboratório de microbiologia para análises de alimentos e ambientais no grupo Guarani Terreos. Foi professor eventual na rede estadual de ensino público. No ano de 2013 foi técnico de laboratório no Centro Universitário UNIFAFIBE. Em março de 2015 iniciou mestrado em Microbiologia Agropecuária, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da UNESP, Câmpus de Jaboticabal - SP.

“O maior erro que um homem pode cometer é sacrificar a sua saúde a qualquer outra vantagem.”

- Arthur Schopenhauer

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais Luis e Lucia pelo apoio emocional e financeiro incondicional que me deram durante toda minha vida acadêmica, e ao meu irmão Junior pelo seu companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela saúde que tive para enfrentar todos os desafios e sabedoria para agir.

Agradeço aos meus pais por todo carinho e colaboração, e pela paciência que tiveram sempre comigo, e por nunca me deixarem desistir;

Ao Prof. Dr. Roberto Alves de Oliveira por aceitar me orientar, me ajudar construir conhecimentos, ter paciência no meu amadurecimento acadêmico e dedicação ao nosso projeto.

A Prof. Dra. Rose Maria Duda pela orientação, ajuda com todas as análises e parte laboratorial, correções e colaborações preciosas para a melhoria deste trabalho e sua dedicação ao nosso grupo de pesquisa;

Aos colegas de laboratório Valciney, Aureo, Wilmar, Kleber, Daiana, pelo apoio com as análises, prazos e todo conteúdo, convivência diária, muitas risadas e compartilhamento de felicidades. Agradecimento especial a Daniele que iniciou o mestrado junto comigo e desenvolvemos projetos diferentes, mas sempre juntos, no riso e no choro e no choro com riso;

Aos funcionários do Departamento de Engenharia Rural, em especial Ailton pela sua enorme colaboração com o experimento, sempre nos ajudando a resolver os problemas que surgem do nada e ao Davi, por sempre dar apoio na parte burocrática;

As amigas que fiz em disciplinas, que viraram minha segunda família em Jaboticabal, sempre sendo minha ancora mostrando o que vale a pena e que a vida é algo muito maior, e que as conquistas não são nada se não tivermos gente do bem do nosso lado para compartilharmos. Por isso muito obrigado Natalia, Roberta, Lana, Vanessa, Fernanda, Paola, Larissa;

Ao Luís Felipe não só pelo apoio emocional, mas também pelo apoio no projeto e por sempre acreditar no melhor que posso fazer.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iii
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS	vi
1. Introdução	1
2. OBJETIVO.....	3
2.1. Objetivo Geral	3
2.2. Objetivos Específicos.....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1. Geração de Resíduos	4
3.1.1. Esgotos Sanitários	4
3.1.2. Resíduos Vegetais	6
3.2 Digestão Anaeróbia.....	10
3.2.1. Co-digestão Anaerobia	12
3.3 Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo e Alta Taxa (RAHLF)	14
4. MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1 Configuração dos reatores e condições operacionais	17
4.2. Inoculo e substrato.....	19
4.3 Análises Físico-químicas e Microbiológicas.....	21
4.4 Informações do DNA Genômico.....	23
4.4.1 PCR em Tempo Real - Absoluta (qPCR).....	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
5.1 Temperatura.....	27
5.2 Valores de pH, alcalinidade e ácidos voláteis totais.....	28
5.3 Características do afluente e efluentes e remoção de material orgânico.....	33
5.3.1 Demanda Química de Oxigênio (DQO)	33
5.3.2 Sólidos totais (ST), fixos (SF) e voláteis (SV) e sólidos suspensos totais (SST), fixos (SSF) e voláteis (SSV) no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios horizontais.....	39
5.5 Produção e Composição de Biogás	43
5.5.1 Balanço de massa	47

5.6 Lodo	48
5.7 Teor de macronutrientes e micronutrientes nos afluentes e efluentes	50
5.7.1 Nitrogênio e Fósforo	50
5.7.2 Ferro, Zinco, Cobre e Manganês	52
5.7.3 Cálcio, Magnésio, Potássio e Sódio.....	54
5.8 Coliformes totais e termotolerantes.....	56
5.9 Quantificação absoluta da microbiota	59
6. CONCLUSÃO.....	62
7. REFERÊNCIAS.....	63

CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS VEGETAIS E ESGOTO SANITÁRIO EM REATORES HORIZONTAIS DE LEITO FIXO E ALTA TAXA

RESUMO – Avaliou-se o desempenho de quatro reatores anaeróbios horizontais com leito fixo (RAHLF), R1, R2, R3 e R4, instalados em série para remoção de matéria orgânica, coliformes, nutrientes e produção de metano na co-digestão anaeróbia de esgoto sanitário (ES), com diferentes proporções de resíduos vegetais (tomate e banana) (RV). Os RAHLF (R1+ R2+ R3+ R4) foram operados com TDH de 10,9 dias e as COV aplicadas no R1 foram de 3,9; 2,7; 5,5 e 10,4 g DQO_{total} (L d)⁻¹, nos ensaios 1, 2, 3 e 4, respectivamente. A proporção de RV na constituição do afluente foi de 5% nos ensaios 1 e 2 e aumentada para 10% no ensaio 3 e 20% no ensaio 4. A recirculação de efluente utilizada, nos ensaios 3 e 4, proporcionou aumento da alcalinidade parcial média de 0 para 1923 mg L⁻¹ nos afluentes dos reatores, que mantiveram pH estáveis acima 7. A maior produção volumétrica de metano foi registrada no R1, atingindo o valor de até 1,123 L CH₄ (L d)⁻¹ com uma COV 10,36 g DQO (L d)⁻¹ com 20% de RV no afluente. A produção específica de metano foi de até 0,239 e 0,318 L CH₄ g DQO_{total} removida, no R2 e R3, respectivamente e ocorreram com a proporção de 20% de RV no afluente. No sistema de reatores (R1+R2+R3+R4) foram observadas remoções de DQO_{total}, e DQOdiss de 97 e 96%, remoções de até 99,97 e 99,95% para os coliformes totais e termotolerantes e de 80 e 90% para os sólidos totais e voláteis. A PCR quantitativa realizada no lodo do R1 mostrou equilíbrio entre o número de indivíduos dos domínios Bactéria e Arquéias, e a uma quantidade superior das ordens Methanosarcinales e Methanobacteriales em relação a ordem Methanomicrobiales, ambas atuantes nas vias metabólicas hidrogenotrófica e acetoclástica. Nas famílias Methanosarcinaceae foram observadas 1,61x10¹⁰ cópias/gSV, enquanto Methanosaetaceae, teve uma contagem de 2,31x10⁸ cópias/gSV, o que pode ter contribuído para a conversão do acetato a metano.

Palavras-chave: metano, remoção de matéria orgânica, hidrólise, coliformes termotolerantes, recirculação de efluente.

ANAEROBIC CO-DIGESTION OF SANITARY SEWAGE WITH VEGETABLE WASTE IN HIGH-RATE HORIZONTAL REACTORS WITH FIXED BED

ABSTRACT - The performance of four horizontal anaerobic reactors with fixed bed (HARFB), R1, R2, R3 and R4, installed in series for the removal of organic matter, coliforms, nutrients and methane production in the anaerobic co-digestion of sewage (ES) with different proportions of vegetable waste (tomato and banana) (VW). The HARFB (R1 + R2 + R3 + R4) were operated with HDT of 10.9 days and the OLR applied in R1 were of 3.9; 2.7; 5.5 and 10.4 g COD_{total} (L d)⁻¹, in tests 1, 2, 3 and 4, respectively. The ratio of VW in the tributary composition was 5% in test 1 and 2 and increased to 10% in test 3 and 20% in test 4. The effluent recirculation used in test 3 and 4 provided an increase in mean partial alkalinity from 0 to 1923 mg L⁻¹ in the effluent of the reactors, which maintained stable pH above 7.0. The highest volumetric production of methane was recorded in R1, reaching a value up to 1,123 L CH₄ (L d)⁻¹ with a OLR of 10.36 g COD (L d)⁻¹ with 20% VW in the affluent. The specific production of methane was up to 0.239 and 0.318 L CH₄ g DQO_{total} removed, in R2 and R3, respectively and occurred with the proportion of 20% of VW in the tributary. In the reactor system (R1+R2+R3+R4), were observed removals of COD_{total} and COD_{diss} of 97 and 96%, removals of total and thermotolerant coliforms up to 99.97 and 99.95% and removals for total and volatile solids of 80 and 90%. The quantitative PCR performed in the R1 sludge showed a balance between the number of individuals from the Bacteria and Archaea domains, and a larger domain of the Methanosarcinales and Methanobacteriales orders in relation to the Methanomicrobiales order, both active in the hydrogenotrophic and acetoclastic metabolic pathways. In the architectural families, Methanosarcinaceae presented 1.0x10⁹ copies/gVS, while Methanosaetaceae, had a count of 2.0x10⁷ copies/gVS, showing the greater consumption of acetate in the methane conversion.

Key-words: methane, organic matter removal, hydrolysis, thermotolerant coliforms, effluent recirculation.

LISTA DE ABREVIATURAS

AI - Alcalinidade intermediária

AP - Alcalinidade parcial

AT - Alcalinidade total

AVT – Ácidos voláteis totais

COV - Carga orgânica volumétrica

CV - Coeficiente de variação

DQO_{total} - Demanda química de oxigênio total

DQO_{diss} - Demanda química de oxigênio dissolvida

ER - Efluente recirculado

ES - Esgoto sanitário

N-am - Nitrogênio amoniacal

NTK - Nitrogênio total Kjehdal

P-total - Fósforo total

pH - Potencial hidrogeniônico

RV – Resíduo vegetal

ST - Sólidos totais

SV - Sólidos voláteis

SST - Sólidos suspensos totais

SSV - Sólidos suspensos voláteis

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características físico-químicas da banana e tomate.....	9
Tabela 2. Estudos de co-digestão com diferentes tipos de reatores, proporções e substratos.....	14
Tabela 3. Valores do diâmetro, comprimento, tempo de detenção hidráulica (TDH), velocidade superficial do líquido (VSL), volume total e útil, nos reatores anaeróbios horizontais (R1, R2, R3 e R4).	19
Tabela 4. Temperatura, proporção de resíduo vegetal (RV), esgoto sanitário (ES) e efluente recirculado (ER) do afluente e carga orgânica volumétrica (COV) aplicada no R1, nos ensaios 1, 2, 3 e 4 para a co-digestão anaeróbia de ES e RV, nos reatores RAHLF, em série.....	20
Tabela 5. Frequências e análises físico-químicas e microbiológicas.....	22
Tabela 6. Oligonucleotídeos específicos	24
Tabela 7. Valores médios das temperaturas do ar máximas, médias e mínimas observadas na Estação Agroclimatológica do Câmpus de Jaboticabal, durante a operação dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série durante os ensaios de 1 a 4.....	27
Tabela 8. Valores médios de pH, ácidos voláteis totais (AVT), alcalinidade parcial (AP) e relação entre a alcalinidade intermediária e parcial (AI/AP) no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série durante os ensaios de 1 a 4.....	29
Tabela 9. Valores médios e coeficiente de variação da carga orgânica volumétrica (COV), demanda química de oxigênio total (DQO _{total}) e demanda química de oxigênio dissolvida (DQO _{diss}) no afluente e nos efluentes dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série, durante os ensaios de 1 a 4.....	33
Tabela 10. Valores médios e coeficiente de variação (c.v.) das eficiências de remoção de demanda química de oxigênio total (DQO _{total}) e dissolvida (DQO _{diss}) nos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série durante os ensaios de 1 a 4.	36
Tabela 11. Valores médios e coeficiente de variação de sólidos totais (ST), voláteis (SV) e fixos (SF), sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF) no	

afluente e nos efluentes dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série, durante os ensaios de 1 a 4.....40

Tabela 12. Valores médios das eficiências de remoção de sólidos totais (ST) e voláteis (SV) e sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV) e seus respectivos coeficientes de variação (c.v.) nos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série durante os ensaios de 1 a 4.....42

Tabela 13. Valores médios da produção volumétrica e específica de metano, e conteúdo de CH₄% no biogás nos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2 e R3) instalados em série durante os ensaios de 1 a 4.....44

Tabela 14. Balanço de Massa: Estimativas do percentual de DQO_{total} removido convertido em lodo e metano47

Tabela 15. Valores médios e coeficiente de variação de nitrogênio amoniacal (N-am), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) e fósforo total no efluente dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série durante os ensaios de 1 a 4.51

Tabela 16. Valores da relação DQO:N:P nos efluentes dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (R1, R2, R3 e R4) instalados em série nos ensaios de 1 a 452

Tabela 17. Valores médios e coeficiente de variação (c.v. %) das concentrações e remoções no sistema (R1, R2, R3 e R4) de ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu) e manganês (Mn) durante a operação dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo nos ensaios de 1 ao 4.53

Tabela 18. Valores médios e coeficiente de variação (c.v. %) das concentrações e remoções no sistema (R1, R2, R3 e R4) de cálcio (Ca), magnésio (Mg), Potássio (K) e sódio (Na) durante a operação dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo nos ensaios de 1 ao 4.55

Tabela 19. Valores médios de coliformes totais e coliformes termotolerantes no afluente e efluentes, eficiência na remoção no sistema composto pelos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (R1, R2, R3 e R4), instalados em série, durante os ensaios 1 a 4.57

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Decomposição anaeróbia da matéria orgânica em biogás (Adaptado de SCHUNURER; JARVIS (2009)). 11
- Figura 2.** Esquema de um reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) 15
- Figura 3.** Foto dos RAHLF (R1, R2, R3 e R4) instalados em série e seus respectivos gasômetros..... 17
- Figura 4.** Representação esquemática do Sistema de tratamento de quatro reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) em série (R1, R2, R3 e R4)..... 18
- Figura 5.** Fotos dos bambus (a) utilizados como meio suporte nos reatores horizontais de leito fixo (R1, R2 e R3) e dos anéis de polipropileno (Bioring®) (b) utilizados como meio suporte nos R4..... 18
- Figura 6.** Esquema de preparo dos Resíduos Vegetais (RV)21
- Figura 7.** Temperaturas mínimas, médias e máximas do ar observadas na Estação Agroclimatológica durante os ensaios 1 a 4.28
- Figura 8.** pH no Afluente e efluentes dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (R1, R2, R3 e R4), instalados em série nos ensaios de 1 a 4.30
- Figura 9.** Ácidos voláteis totais (AVT) versus alcalinidade parcial (AP) no sistema de tratamento, composto pelos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) (R1, R2, R3 e R4) instalados em série, durante os ensaios 1, 2, 3 e 4.32
- Figura 10.** Valores médios de DQO_{total} (A) e DQO_{diss} (B) e respectivos coeficientes de variação no sistema de tratamento dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) (R1, R2, R3 e R4) instalados em série, durante os ensaios 1 a 4.35
- Figura 11.** Eficiências médias de remoção de DQO_{total} e respectivos coeficientes de variação no sistema de tratamento dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF)(R1, R2, R3 e R4) instalados em série, durante os ensaios 1 a 4.....37
- Figura 12.** Eficiências médias de remoção de demanda química de oxigênio dissolvida (DQO_{diss}) e respectivos coeficientes de variação no sistema de tratamento dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) (R1, R2, R3 e R4) instalados em série, durante os ensaios 1 a 4.....38

- Figura 13.** Produção volumétrica de metano versus a carga orgânica volumétrica (COV) no sistema de tratamento dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) instalados em série; R1, R2 e R3, durante os ensaios de 1 a 4.....43
- Figura 14.** Valores de sólidos voláteis (SV) e relação sólidos voláteis / sólidos totais (SV/ST) nos pontos de coleta (P1 a P6) nos reatores RAHLF (R1, R2, R3 e R4), instalados em série durante os ensaios 1 a 4.49
- Figura 15.** Quantificação absoluta dos micro-organismos com qPCR dos domínios Bacteria e Archaea, três ordens (Methanobacteriales, Methanomicrobiales e Methanosarcinales) e duas famílias (Methanosarcinaceae e Methanosaetaceae) do domínio Achaea, presentes no lodo do R1.61

1. INTRODUÇÃO

Anualmente, são desperdiçados aproximadamente 45% das 1,5 bilhões de toneladas de frutas e vegetais produzidos no mundo (FAO, 2013). Estima-se que mais da metade das frutas e verduras foram desperdiçadas na América Latina, e este é um problema que é enfrentado mundialmente. O Brasil está entre os três maiores produtores de frutas e verduras do mundo, porém aproximadamente 20% da produção é perdida antes de sair da propriedade rural (FAO, 2013; SANTOS; VIEIRA, 2011). No Brasil os vegetais que apresentam maiores perdas na pós colheita são a banana e o tomate, com 60% e 86%, respectivamente (Henz e Moretti, 2005; Lichtemberg, et al., 2008).

Os resíduos de frutas e vegetais se destinados inadequadamente, em virtude da grande quantidade de matéria orgânica e umidade, produzem gases como o metano, que contribuem para o agravamento do efeito estufa (LIN et al., 2011) e o líquido percolado que pode contaminar o solo e a água.

O tratamento de resíduos orgânicos utilizando a digestão anaeróbia é opção para a produção de energia renovável e a reciclagem de nutrientes (DI MARIA et al., 2015). A co-digestão anaeróbia, que é utilização combinada de dois ou mais tipos diferentes de resíduos vem sendo utilizada para aumentar a capacidade de tamponamento dos reatores anaeróbios (XIE et al., 2011) e suprir a deficiência de nutrientes requeridos pelos micro-organismos anaeróbios (WU, 2007), e consequentemente, melhorar a produção de metano dos RV. Mas existe a necessidade de se avaliar a disponibilidade e a facilidade de obtenção dos resíduos que serão utilizados na co-digestão anaeróbia.

A utilização de esgotos sanitários, em virtude da disponibilidade de grandes volumes e da proximidade dos centros consumidores, onde ocorrem perdas significativas dos RV, é viável para a co-digestão. De acordo com Pedroza et al. (2010), a produção de esgoto doméstico por habitante no Brasil é de aproximadamente 80 a 200 litros por dia. Segundo pesquisa do Instituto Trata Brasil (2014) apenas 40% do esgoto doméstico gerado no Brasil é tratado. O uso de reatores anaeróbios para o tratamento de esgotos sanitários é viável para a remoção de matéria orgânica, mas não muito explorado para produção de biogás, em virtude

da baixa carga orgânica deste resíduo (Abreu e Zaiat, 2008; Zhai et al., 2015). A co-digestão anaeróbia do esgoto sanitário com os RV poderá proporcionar o aumento da produção de biogás e, conseqüentemente, de energia.

Em virtude da alta quantidade de sólidos nos resíduos vegetais (RV), os reatores anaeróbios operados em batelada e em mistura completa são os mais utilizados (BOUALLAGUI et al., 2009; GANESH et al., 2013; LIU et al., 2012), mas frequentemente são descritos problemas como o acúmulo de ácidos e toxicidade por amônia (MAZARELLI et al., 2016). O processo de digestão anaeróbia é sensível à mudanças de cargas orgânicas volumétricas, pH e composição do substrato (GANESH et al., 2013). A rápida hidrólise na digestão de resíduos ricos em carboidratos como os RV, pode ocasionar o acúmulo de ácidos voláteis totais (AVT) nos reatores anaeróbios e conseqüente inibição da atividade metanogênica (LI et al., 2016; TIAN et al., 2015). A suplementação de alcalinidade através de produtos químicos é alternativa para prover o tamponamento do sistema, evitando variações do pH, porém, esta suplementação gera custos (Romano e Zhang, 2011). Uma alternativa a suplementação química é a recirculação do efluente da saída do reator anaeróbio, aproveitando a alcalinidade gerada sem aumento de custo do tratamento com a utilização de produtos químicos (CAVINATO et al., 2011; ZUO et al., 2013).

Os reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) tem sido estudados no tratamento de águas residuárias de suinocultura (DUDA et al., 2015) e também na co-digestão de RV e águas residuárias de suinocultura (MAZARELI et al., 2016) como uma alternativa aos reatores anaeróbios operados em batelada e em mistura completa. As produções volumétricas de metano de aproximadamente de $1,5 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ foram obtidas por Mazarelli et al., (2016) utilizando o TDH de apenas dois dias, ou seja, muito inferior aos descritos na literatura para reatores operados em batelada, com TDH de até 30 dias (RIGGIO; COMINO; ROSSO, 2015), motivando a realização deste estudo.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o desempenho de quatro reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (RAHLF), em série, quanto a remoção de matéria orgânica, nutrientes, coliformes totais e termotolerantes e produção de metano no processo de co-digestão anaeróbia de diferentes proporções de resíduos vegetais (RV) (tomate e banana) e esgoto sanitário (ES), com o intuito de encontrar a proporção ideal dos substratos (RV e ES) para a produção de biogás.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito da instalação em série dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo de alta taxa (RAHLF) (R1, R2, R3 e R4), e verificar a quantidade ideal de RAHLF em série, quanto a remoção de matéria orgânica, fósforo, nitrogênio e produção de metano;
- Verificar o efeito do aumento da proporção de resíduo vegetal (RV), de 5% até 20%, na co-digestão com o esgoto sanitário, quanto a produção de biogás;
- Avaliar o efeito da recirculação do efluente do R4 na manutenção do pH, alcalinidade e ácidos voláteis totais, nos RAHLF.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Geração de Resíduos

3.1.1. Esgotos Sanitários

A água é o recurso natural muito importante para planeta, pois é o elemento vital para toda forma de vida conhecida. Aproximadamente 71% da superfície terrestre é coberta por água, porém apenas 2,5% da água da terra é água doce. A rápida urbanização sem planejamento e expansão industrial crescente nas economias em desenvolvimento produzem maiores quantidades de esgotos e águas residuárias que interferem diretamente na qualidade de corpos d'água (RAJASULOCHANA; PREETHY, 2016).

Os esgotos sanitários municipais são um problema no mundo todo, e de acordo com Rajasulochana e Preethy (2016) aproximadamente 1,1 bilhão de pessoas no mundo utilizam água de fontes contaminadas. O esgoto sanitário é constituído em quase sua totalidade por água (99,9%) e de sólidos (0,1%). Estes sólidos presentes no esgoto podem ser divididos em orgânicos (proteínas, carboidratos, lipídios e micro-organismos) e inorgânicos (amônia, nitratos, ortofosfatos, etc.) (VON SPERLING, 1996). As maiores populações microbianas encontradas nos esgotos sanitários e nos sistemas de tratamento de águas residuais são bactérias, protozoários, algas, fungos, vírus e helmintos, organismos estes que podem levar à propagação de doenças.

Usualmente classificamos os esgotos em dois grupos. No primeiro grupo temos os esgotos sanitários que são oriundos de despejos domésticos, uma parcela de águas pluviais, águas de infiltração e eventualmente uma parcela não significativa de despejos industriais. Já no segundo grupo estão os esgotos industriais que são os resíduos provenientes das atividades industriais e possuem características próprias em função aos diferentes processos industriais. Os esgotos sanitários são formados principalmente por despejos domésticos como a água usada na higiene e necessidades fisiológicas humanas, constituídos basicamente de água de banho, urina, fezes, restos de comida, sabões, detergentes e águas de

lavagem provindos de quaisquer edificações que contenham instalações de banheiros, cozinhas, lavanderias, e locais que utilizem de água para uso doméstico (JORDÃO; PESSOA, 2014).

Os esgotos sanitários tem sua qualidade determinada usualmente a partir da quantidade de matéria orgânica presente, que é determinada por meio de análises físico-químicas, como análise da demanda química de oxigênio (DQO) e demanda biológica de oxigênio (DBO) (SPEECE, 2008).

Silva et. al. (1997) quantificaram a DQO de esgotos sanitários, que variou de 455 a 1021 mg L⁻¹, em cinco estações de tratamento do município de Vitória – ES, e mostraram que apesar da constituição das águas residuárias serem similares, elas variam de acordo com as características socioeconômicas, medição do sistema de distribuição de água, hábitos culturais e alimentares, comprimentos de redes, entre outros.

Os tratamentos anaeróbios de esgotos que outrora eram considerados inviáveis em virtude das falhas na aplicação de projetos, atualmente vem sendo cada vez mais estudados (SPEECE, 2008). A retenção da biomassa dentro dos reatores anaeróbios de alta taxa é um dos atrativos, pois melhora a qualidade do efluente. Os reatores anaeróbios de leito fixo, por exemplo, têm essa capacidade de retenção em virtude da imobilização no material suporte da biomassa e da formação de biofilmes. O uso de reatores anaeróbios de alta taxa vem sendo bem aceito, em países com baixo poder aquisitivo e nações desenvolvidas, graças a sua viabilidade e bons resultados nos tratamentos de esgotos sanitários (ABREU, ZAIAT, 2008).

A maior parte dos trabalhos com tratamento de esgotos sanitários consiste no estudo da remoção da matéria orgânica, e há poucos estudos sobre recuperação energética por meio da digestão anaeróbia, em virtude das baixas cargas orgânicas deste tipo de água residuária. Portanto, os esforços para recuperação energética utilizando a digestão anaeróbia ocorre predominantemente utilizando o lodo de esgotos.

A recuperação energética por meio da digestão anaeróbia de esgotos sanitários em climas de temperaturas moderadas ainda não é viável em virtude das baixas taxas de cargas orgânicas e a perda de metano dissolvido no efluente (VERSTRAETE; VAN DE CAVEYE; DIAMANTIS, 2009). Van Haandel e Lettinga

(1994) citam que a remoção de DQO na digestão anaeróbia de esgoto é de aproximadamente 60 a 70%, mas em virtude das perdas de metano dissolvido no efluente, haveria 40 a 45% de recuperação da energia do carbono orgânico do esgoto sanitário.

A formação de lodo em estações de tratamento é algo inevitável, podendo ele se formar desde um pré-tratamento por sedimentação primária ou sedimentação quimicamente forçada, e atingem remoções de 60 a 85% (MEERBURG et al., 2015). Este lodo em virtude do seu alto teor de matéria orgânica é uma fonte viável para recuperação energética e é amplamente estudado em co-digestão anaeróbia com outros resíduos, como restos de vegetais. Já o esgoto sanitário carece de literatura para demonstrar sua empregabilidade para recuperação energética em co-digestão anaeróbia.

3.1.2. Resíduos Vegetais

A ABETRE (2006) define resíduos como os "restos das atividades humanas, considerados pelos geradores como inúteis, indesejáveis ou descartáveis, podendo apresentar-se no estado sólido, semissólido ou líquido, desde que não seja passível de tratamento convencional".

Uma fração bastante significativa dos resíduos sólidos urbanos são os resíduos sólidos domiciliares, que são constituídos basicamente por materiais orgânicos fermentáveis, podendo ser aproveitados em processo de bioestabilização anaeróbia (ABILA, 2014). Quanto aos resíduos sólidos urbanos, são constituídos, em geral, por resíduos sólidos domiciliares, papel e papelão, trapos, palhas, folhagens e tecidos celulares, considerados materiais celulósicos e se enquadram dentre os compostos químicos denominados carboidratos (LEITE et al., 2003).

Outra fonte importante de resíduos sólidos são os resíduos vegetais, como frutas e hortaliças. Além das perdas que ocorrem em campo no processo de colheita e distribuição, também se perdem muitos alimentos em virtude de técnicas de embalagem e no varejo como em feiras livres e centrais de abastecimento. É um desafio reduzir as perdas pós-colheita, pois mesmo depois de colhidas as frutas continuam seus processos biológicos como respiração e transpiração (KITINOJA; KADER, 2015). Essas perdas pós-colheita podem ser ainda maiores nos países

tropicais devido às condições climáticas como calor e umidade, fatores que propiciam condições favoráveis ao crescimento de fungos e bactérias que aceleram o processo de putrefação destes vegetais.

Almeida et al. (2012) ainda cita como causas de perdas no período pós-colheita:

- Embalagens inadequadas, manejo, manuseio e acondicionamento incorreto durante o fluxo de comercialização;
- Estrutura e instalações dos equipamentos de comercialização insuficientes;
- Agrotecnologia insuficiente no campo, com classificação e padronização insatisfatórias;
- Distância dos fornecedores;

No Brasil as injúrias mecânicas sofridas no sistema pós-colheita causam perdas médias de frutas e vegetais de 20 a 30%, níveis acima de outros países como a China que sofre uma média de 10 a 15% de perda no pós-colheita (KITINOJA; KADER, 2015).

Banana

A banana é uma das frutas mais consumidas no mundo e cultivada na maioria dos países tropicais. A produção Brasileira e mundial de banana, no ano de 2013, foi estimada em 7 milhões de toneladas (IBGE, 2013) e 50 milhões de toneladas (FAO, 2014), respectivamente. A banana está entre os vegetais que sofrem as maiores perdas, em virtude da sua alta perecibilidade, que atinge até 60% do total produzido (Almeida et al. 2012). Em estudo no mercado varejista do município de Cuiabá – MT, Campos et. al. (2003) registraram perdas de até 42% do fruto até o seu destino final. Souza et. al. (1995) avaliou as perdas em diferentes etapas da cadeia produtiva da banana no Brasil e indicaram que mais de 5% ocorre na produção, 2% na embalagem, entre 6 a 10% no atacado, 10 a 15% no varejo e 5 a 8% no consumidor. George e Mwangangi (1994) citam como agravante nas perdas de banana, o transporte para distantes mercados, que aumentam a incidência e gravidade do dano físico. Em uma análise de perdas de banana pós-colheita em países em desenvolvimento, Kitinoja e Kader (2015) relatam perdas de 8% na Etiópia, 20% no Sri Lanka, 14 a 35% na Índia, 18 a 46% no Quênia e 19% no Brasil.

Tomate

Em relação ao consumo per capita, o tomate é um dos frutos mais consumidos mundialmente. De acordo com relatório da FAO, em 2013, foram produzidas mundialmente 127 milhões de (t) de tomate, e no Brasil a produção foi de 4 milhões (t). A WPTC (2017) estima que em 2016 mais de 38 milhões de toneladas de tomate foram processadas mundialmente para a produção de ketchup, extratos concentrados, sopas, suco entre outros produtos. Durante seu processamento é gerado um resíduo, formado principalmente pela pele e sementes e representa cerca de 5% do tomate, que é descartado por não possuir valor comercial (SHARMA; OBEROI; DHILLON, 2016).

No Brasil predomina a seleção manual de tomates e o transporte em caixa tipo K. Ferreira et al. (2008) avaliaram os defeitos e danos físicos sofridos na pós colheita, e ainda no campo os frutos amostrados já demonstravam danos físicos, provenientes principalmente da abrasão com as estacas de bambu e fios de amarrio, ataque de insetos e distúrbios fisiológicos e nutricionais. Após 2 dias da colheita, no centro de distribuição para o atacado, já pode se observar incremento nos danos físicos e na perda de peso e conseqüente perda na qualidade devido ao manuseio e transporte do produto. A perdas no período de pós colheita de produtos do setor de hortifrúti, como o tomate variam entre 15 e 100%, e é muito elevado quando comparado as perdas de grão e cereais que variam de 5 a 30% (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Em virtude da alta produção e perdas de banana e tomate, fica explícita a necessidade de métodos adequados de manejo destes resíduos, que são constituídos por grande parcela putrescível de matéria orgânica e ambos são substratos em potencial para produção de biogás. Menezes (2012) caracterizou quimicamente estes dois vegetais podendo se observar os resultados de sua composição na Tabela 1.

Diversos estudos apontam a eficiência no tratamento anaeróbio de resíduos sólidos orgânicos como alternativa de tratamento integral de resíduos sólidos vegetais, fornecendo como produtos o biogás que pode ser usado como fonte de energia e composto bioestabilizado que pode ser usado como fertilizante.

Tabela 1. Características físico-químicas da banana e tomate

	Umidade	ST	STV	COT	NTK	N-NH ₄ ⁺	pH	DQO
Banana	87,72	122,8	97,5	54,2	1,4	0,28	5,58	67,0
Tomate	97,21	27,9	17,2	9,6	1,26	0,84	3,71	24,0

Unidade = g L⁻¹ exceto Umidade = %. ST= Sólidos totais; STV = Sólidos Totais Voláteis; COT = Carbono Orgânico Total; NTK = Nitrogênio Total Kjeldahl; N-NH₄⁺ = Nitrogênio Amoniacal; DQO = demanda química de oxigênio.

Fonte: Menezes, 2012

Felizola et. al. (2006) utilizando o processo de digestão anaeróbia de resíduos vegetais com baixa concentração de sólidos, em um reator anaeróbio compartimentado (RAC) obtiveram uma remoção média de sólidos totais voláteis (STV) de 97%. O substrato era constituído por sólidos vegetais, provenientes de restaurantes constituídos por restos de comidas, frutas e verduras e lodo parcialmente estabilizado, e o sistema atingiu uma média de remoção de DQO de 78%, mesmo com variações na DQO afluente, de 0,36 a 4,36 g de O₂L⁻¹. A composição média do biogás produzido foi de 22% de CH₄ e 78% de CO₂. Portanto, os autores sugerem o emprego de outro substrato na co-digestão para melhorar a variabilidade de nutrientes e capacidade de tamponamento do reator, pois o pH do efluente ficou na faixa de 3,2 a 5,6, o que provavelmente provocou a baixa percentagem de metano no biogás.

Al Mamun e Torii (2015) conseguiram atingir melhores níveis de CH₄ no biogás com a co-digestão de resíduos orgânicos produzidos em um refeitório, resíduos de um mercado de frutas e resíduos de um mercado de vegetais. Os autores fizeram a mistura dos resíduos na proporção de 1:1:1 e obtiveram uma média de produção de biogás de 19,43 L d⁻¹ com níveis médios de 63,75% de CH₄. Leite et al. (2004) trabalhando com um reator compartimentado e substrato formado de 80% de resíduos sólidos orgânicos e 20% de lodo de esgoto sanitário com uma carga orgânica de 9,3 kg m⁻³ d⁻¹, obtiveram a eficiência de redução de material carbonáceo de aproximadamente 80%. A produção de biogás variou de 40 a 200

litros, propiciando uma média de 120 L d⁻¹ durante o período, com valores médios de metano de 60%.

3.2 Digestão Anaeróbia

A digestão anaeróbia é o processo bioquímico conduzido em condições anaeróbias por um consórcio de vários micro-organismos, que metabolizam compostos orgânicos em uma mistura gasosa chamada de biogás, que é constituído basicamente de metano e dióxido de carbono (UÇKUN KIRAN et al., 2016). A produção de metano através da digestão anaeróbia se mostra uma excelente fonte de energia renovável como opção a utilização de combustíveis fósseis. O metano pode ser utilizado para a produção de calor e energia, quanto para combustível de veículos, enquanto o lodo digerido pode ser usado como adubo em substituição ao adubo mineral (WEILAND, 2010). Durante a redução destes compostos orgânicos complexos a metano, há formação de compostos intermediários, como os ácidos fórmicos, butírico e principalmente ácido acético e propiônico (Figura 1).

Mundialmente as abordagens tradicionais para tratamento de resíduos vegetais são dispô-los em aterros sanitários, incineração e compostagem. Porém os aterros foram banidos em muitos países e a incineração pode ocasionar poluição do ar, o que faz as duas abordagens serem gradualmente descartadas, junto ao uso de resíduos alimentares para a nutrição animal, que também vem sendo descartado por trazer riscos de propagação de doenças (ZHANG et al., 2014). Os processos aeróbios são desfavorecidos por necessitarem de pré-tratamento para reduzir a carga orgânica (LANDINE et al., 1983). Vários métodos alternativos se fazem necessários para o manejo de resíduos sólidos orgânicos e a digestão anaeróbia se mostra a melhor opção por possuir vantagens como a recuperação energética destes resíduos e seu relativo baixo custo.

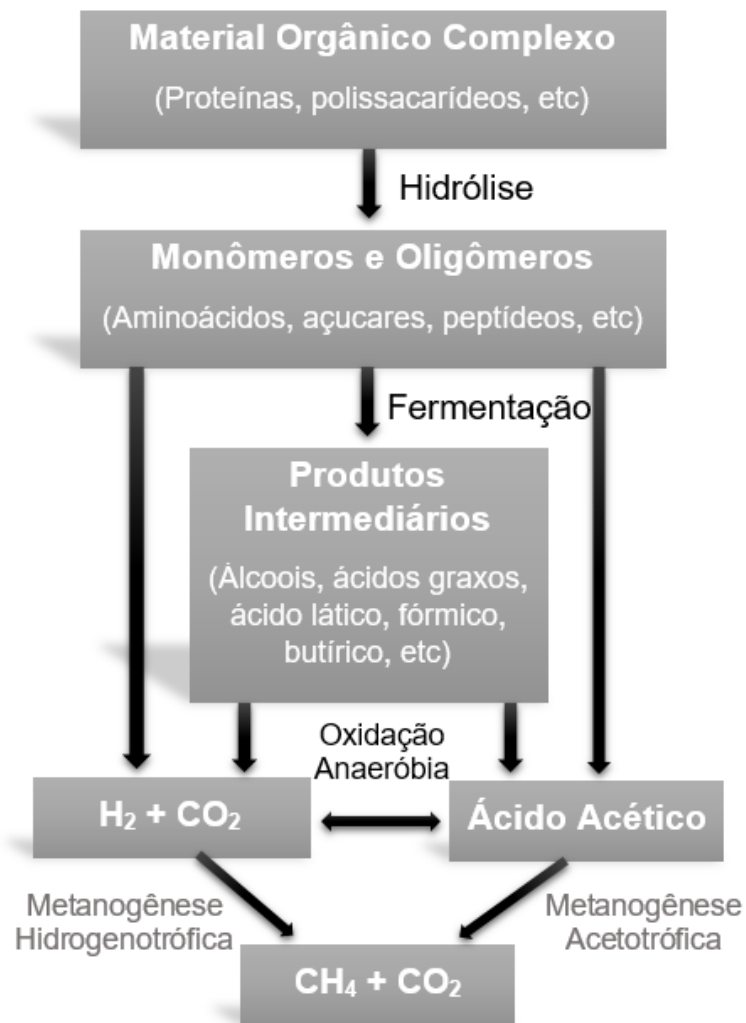


Figura 1. Decomposição anaeróbica da matéria orgânica em biogás (Adaptado de SCHUNURER; JARVIS (2009)).

Diversos países vêm aumentando seus interesses na digestão anaeróbica para tratamento de seus resíduos e produção de energia. A União Europeia que em 2009 produzia de energia a partir do biogás 25,2 TWh e tem planos de aumento para 63,3 TWh até 2020 (WELLINGER, 2011). A China que desenvolve diversos estudos na área de digestão anaeróbica conseguiu aumentar sua produção anual de biogás de 10,5 bilhões de m³ em 2007 para 248 bilhões de m³ em 2010, com estações de tratamento construídas com apoio governamental (DENG et al., 2014).

A maior parte dos resíduos vegetais possuem excelentes características para processos de digestão anaeróbica por serem constituídos de matéria orgânica de alta biodegradabilidade (WU et al., 2016). De acordo com Appels et al. (2011) a digestão

anaeróbia pode ser dividida em 4 fases: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. No intuito de alcançar a digestão de maiores COV, com TDH menores, diversas pesquisas de sistemas de digestão em duas fases vêm sendo realizadas, na tentativa de separar a hidrólise e acidogênese em um primeiro reator e acetogênese e metanogênese em um segundo reator (Figura 1) (BOUALLAGUI et al., 2005; GANESH et al., 2014; GHOSH et al., 2000).

3.2.1. Co-digestão Anaeróbia

Inúmeros tipos de materiais orgânicos podem ser utilizados na digestão anaeróbia para a produção de biogás, o que permite uma enorme possibilidade de materiais para estudo. Diversos substratos orgânicos vêm sendo estudados para produção de biogás, como lodos de esgoto provenientes de estações de tratamento de esgoto, que em plantas de tratamento em co-digestão incluem resíduos de matadouros, resíduos de indústrias de alimentos e rações, gordura de fritadeira, resíduos de indústrias de laticínios e farmacêuticas, silagem de capim e resíduos de destilação de etanol, como a vinhaça.

No tratamento anaeróbio o termo co-digestão é utilizado no processo de digestão anaeróbia com dois ou mais tipos de resíduos orgânicos, tendo como vantagem as características complementares destes diferentes substratos, na busca por uma melhor produção de metano (BELLE et al., 2015; LINKE et al., 2013; YAO et al., 2014). Segundo Xie et al., (2011) além da vantagem do aumento na produção de biogás, a co-digestão pode também melhorar a capacidade de tamponamento do sistema para as arqueias metanogênicas, diminuir a inibição por potenciais tóxicos e proporcionar relação C/N adequada para o processo, que são fatores primordiais para melhoria na estabilidade do processo de digestão anaeróbia e para um melhor aproveitamento da matéria orgânica.

A co-digestão de resíduos sólidos vegetais começou a ser estudada como uma alternativa de destinação, pois normalmente esses resíduos são levados aos aterros sanitários, que emitem grandes quantidades de gases causadores do efeito estufa na atmosfera. A opção de tratamento, com a mistura dos resíduos vegetais

com águas residuárias, tem o intuito de aumentar a produção de biogás em reatores anaeróbios (PARK et al., 2011).

A proporção entre os substratos a serem usados na co-digestão anaeróbia é um fator primordial para melhor aproveitamento e estabilidade do processo. Diversos estudos já confirmam a melhoria na produção de metano quando os substratos são digeridos conjuntamente, porém ainda há necessidades de estudos de proporções a se aplicar na co-digestão. Na Tabela 2 estão descritos alguns estudos, para co-digestão anaeróbia de diversos resíduos e as proporções utilizadas. Ressalta-se que na literatura a co-digestão em reatores anaeróbios de alta taxa, com alimentação contínua são escassos, e que existe a necessidade de estudos para diferentes resíduos e proporções adequadas para melhoria na produção de metano, nestes reatores.

Parawira et al., (2004) utilizando reatores anaeróbios em batelada na mono-digestão de resíduos de batata obteve uma produção de metano de $2,5 \text{ m}^3 \text{ kg SV/d}$, e na mono-digestão de folhas de beterraba a produção diária de metano foi de $2,1 \text{ m}^3 \text{ kg SV/d}$. Na co-digestão das folhas de beterraba com os resíduos de batata os pesquisadores obtiveram melhores resultados, com uma produção diária média de metano de $3,9 \text{ m}^3 \text{ por Kg SV d}^{-1}$.

Na co-digestão anaeróbia de dejetos de suínos com água residuária da produção de vinho, utilizando digestores com alimentação semi-contínua, Riaño, Molinuevo e Gonzales (2011), relataram maiores níveis de produção de metano na co-digestão com 10, 25 e 40% de água residuária da produção de vinho atingindo produções volumétricas de metano de 49, 87 e $107 \text{ ml CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ por DQO}_{\text{adicionado}} \text{ d}^{-1}$. Na mono-digestão de dejetos de suínos a produção de metano foi de apenas $27 \text{ ml CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ por DQO}_{\text{adicionado}} \text{ d}^{-1}$. Além de aumentar a produção de metano, a co-digestão com 40% de água residuária da produção de vinho melhorou a eficiência de remoção de $\text{DQO}_{\text{total}}$ e SSV, com valores de 52 e 61%, respectivamente.

O emprego da co-digestão em reatores anaeróbios de alta taxa com alimentação contínua, também apresenta vantagem de menores TDH e maiores COV quando comparados a biodigestores. Na co-digestão anaeróbia de resíduos sólidos vegetais com lodo de esgoto na proporção 80:20 (em percentual de peso), em reator anaeróbio em batelada, com tempo de retenção de sólidos de 270 dias e

COV de 285,7 g DQO (L d)⁻¹, Leite et al., (2015) relataram taxa de produção média de gás metano de 0,25 L CH₄ (g DQO) removida. Já Mazareli et al., (2016) na co-digestão de água de suinocultura com resíduos vegetais na proporção de 70:30 (percentual de volume) em reatores anaeróbios horizontais com alimentação contínua, com TDH de 2 dias e COV 11 g DQO (L d)⁻¹ relataram uma taxa de produção média de metano de 1,08 L CH₄ (g DQO) removida.

Tabela 2. Estudos de co-digestão com diferentes tipos de reatores, proporções e substratos.

Substrato	Reator	TDH (d)	Proporção	Produção de Metano (mL/g SV)	Referência
Esterco Bovino, Grama (EB:GR)	Batelada (vol. 500ml)	30	4:0	88,9	(ZHENG et al., 2015)
			3:1	133,7	
			2:2	155,1	
			1:3	142,5	
			0:4	131,1	
Dejetos de Suínos, Resíduos de Cozinha (DS:RC)	Batelada (vol. 500ml)	95	1:0	248,1	(TIAN et al., 2015)
			5:1	328,2	
			3:1	311,3	
			1:1	409,5	
			1:3	387,8	
			1:5	409,2	
Esterco Bovino, Resíduos de Cozinha (EB:RC)	Batelada (frascos 2L)	45	1:0	176,8	(ARAGAW; ANDARGIE; GESSESSE, 2013)
			3:1	237,9	
			1:1	284,8	
			1:3	325,6	
			0:1	236,2	

3.3 Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo e Alta Taxa (RAHLF)

As técnicas de digestão anaeróbia vêm sendo aperfeiçoadas no intuito de melhorar a qualidade do efluente tratado e a produção e aproveitamento do biogás

Os sistemas anaeróbios de alta taxa caracterizam-se pela capacidade de grande retenção de biomassa microbiana, permitindo baixos TDH e altas COV (KUCZMAN et al., 2014).

Os reatores de alta taxa permitem uma digestão de compostos orgânicos complexos em menores tempos, em virtude da retenção de biomassa microbiana no leito fixo e criação de biofilmes permitindo a operação destes reatores com menores TDH (SINGH; PRERNA, 2009). Na literatura observa-se que reatores de alta taxa tem capacidade de operar com 4 a 15% sólidos, com TDHs de 0,5 a 12 dias (NIZAMI; MURPHY, 2010), o que torna estes reatores adequados para o tratamento de resíduos ricos em matéria orgânica como os RV.

Zaiat; Cabral; Foresti, (1994), desenvolveram os reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) que como característica principal possui meio suporte para a imobilização da biomassa dentro do reator, permitindo TDH menores e tempos de detenção de sólidos (TDS) maiores. O meio suporte inicial utilizado foi a espuma de poliuretano, porém SARTI (1998) observou uma perda da hidrodinâmica no leito do reator em virtude a colmatação, gerando entupimentos. Mas pode-se utilizar outros tipos de materiais suporte para imobilizar a biomassa, como anéis de bambu e eletrodutos (conduítes), buscando-se sempre materiais que tenham uma maior área superficial para a aderência da biomassa.

As principais características do reator anaeróbio horizontal de leito fixo (Figura 2) foram projetadas para o tratamento de águas residuária trabalhando com uma configuração próxima ao escoamento pistonado e desenvolvimento de modelos matemáticos mais simples para análise e aumento de escala (ZAIAT, 2003). Inicialmente no tratamento de água residuária de indústria de papel, Foresti et al., (1995) trabalharam com um TDH de 9,2 horas e temperatura ambiente média de 23°C, e COV de 5,0 g DQO (m³ d)⁻¹, e obtiveram remoções de DQO de 82%.

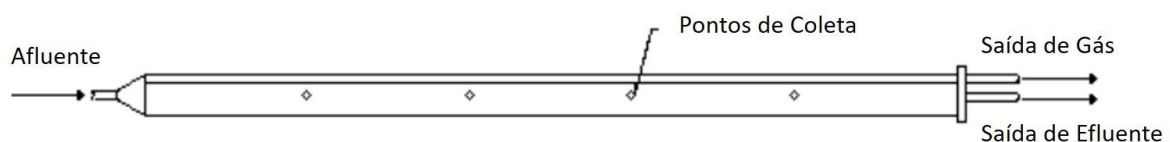


Figura 2. Esquema de um reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF)
Fonte: (ZAIAT et al., 1997).

Em trabalhos posteriores os RAHLF foram avaliados no tratamento de águas residuárias sintéticas simples, à base de glicose (ZAIAT et al., 1997), no tratamento de águas residuária contendo pentaclorofenol, onde Damianovic (1997) relatou o grande potencial dos RAHLF no tratamento de composto tóxicos, e também estudos com esgoto sanitário (ZAIAT; PASSIG; FORESTI, 1998).

Os RAHLF também vem sendo estudados no tratamento de água residuária de suinocultura. Santos e Oliveira (2011) trataram as águas residuárias de suinocultura em sistema combinado anaeróbio-aeróbio com concentrações médias de sólidos suspensos totais (SST) de 18.624 e 11.395 mg L⁻¹. Foram utilizados quatro reatores anaeróbios horizontais com volume total de 49,5 L cada, um com manta de lodo (RAHML) e três de leito fixo (RAHLF), instalados em série, com meio suporte constituído por anéis de bambu, anéis plásticos de eletroduto corrugado e anéis de bucha (*Luffa cyllyndrica*), respectivamente. Os pesquisadores utilizaram neste estudo COV aplicadas no R1 de 53 e 61 g DQO (L d)⁻¹, e obtiveram eficiências médias de remoção de DQO_{total} de 96 e 99% e remoção de SST de 96 e 95%. Os valores médios de produção volumétrica de metano, nos RAHFL foram de até 0,744 m³ CH₄ (m³ reator d)⁻¹.

Há necessidade de novos estudos utilizando os RAHLF para digestão anaeróbia de novos substratos. No trabalho realizado recentemente por Mazareli et al. (2016), empregando a co-digestão de água residuária de suinocultura com resíduos sólidos vegetais, em RAHLF em série foi promissor. Os autores obtiveram melhorias na qualidade do efluente com remoções de 99,99% de coliformes totais e termotolerantes, assim como remoções máximas de 95% de DQO_{total}, 86% de DQO dissolvida, 97% de SST e 98% de SSV. Neste trabalho, utilizando-se os mesmos reatores usados por Mazarelli et al (2016), pretende-se estudar a co-digestão de esgoto sanitário e resíduos vegetais, e contribuir para ampliação do conhecimento sobre os RAHFL, diferentes proporções de resíduos na co-digestão e a aplicação de maiores COV, diminuindo o TDH, para a obtenção de maiores produções de metano.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Configuração dos Reatores e condições operacionais

O sistema experimental foi constituído de um reservatório para armazenamento do afluente e por quatro reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) (R1, R2, R3 e R4), construídos conforme descrito por Mazarelli et al., (2016), em escala piloto e instalados em série (Figura 3 e 4).

Para constituir o leito fixo para a imobilização da biomassa, o R1, R2 e R3 foram preenchidos com anéis de bambu com área superficial de $92,5 \text{ m}^2$ e índice de vazios de 75%, com comprimento e diâmetro médios de 0,046 e 0,025 m, respectivamente. O R4 foi preenchido com anéis de polipropileno (Bioring®) com área superficial de 101 m^2 e índice de vazios de 82,5%, com comprimento e diâmetro médio de 0,09 m (Figura 5).



Figura 3. Foto dos RAHLF (R1, R2, R3 e R4) instalados em série e seus respectivos gasômetros

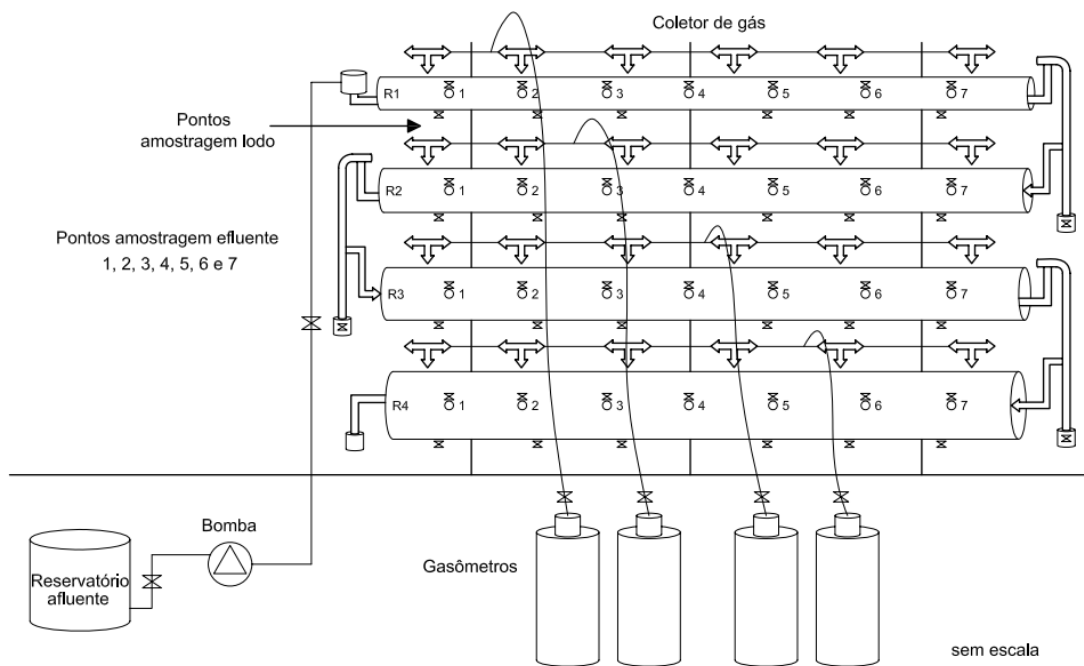


Figura 4. Representação esquemática do Sistema de tratamento de quatro reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) em série (R1, R2, R3 e R4)

O sistema de reatores possui seis saídas de biogás acopladas e interligadas na parte superior de cada reator. A monitorização do volume de biogás produzido foi realizada diariamente com gasômetros de fibra de vidro, conforme descrito por URBINATI et al. (2013). Foram acoplados registros ao longo do comprimento dos reatores, sete nas laterais para a coleta de amostras de efluentes, e seis na parte inferior para a coleta de lodo.

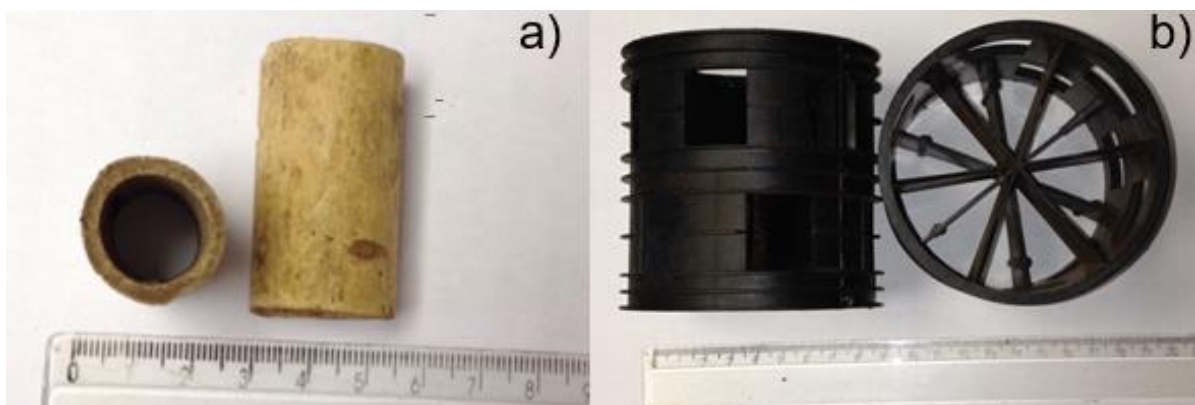


Figura 5. Fotos dos bambus (a) utilizados como meio suporte nos reatores horizontais de leito fixo (R1, R2 e R3) e dos anéis de polipropileno (Bioring®) (b) utilizados como meio suporte, no R4.

Os diâmetros dos reatores R1, R2, R3 e R4 foram crescentes, o que permitiu a aplicação de TDH também crescente, mesmo com a vazão fixa de 23,54 L d⁻¹, como descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Valores do diâmetro, comprimento, tempo de detenção hidráulica (TDH), velocidade superficial do líquido (VSL), volume total e útil, nos reatores anaeróbios horizontais (R1, R2, R3 e R4).

Reatores	Diâmetro (m)	Comprimento (m)	TDH (d)	VSL (m d ⁻¹)	Volume (L)	
					Total	Útil
R1	0,10	6,0	1,5	4	47,10	35,30
R2	0,15	6,0	2,2	2,7	105,90	79,42
R3	0,20	6,0	3,2	1,9	152,60	125,8
R4	0,25	6,0	4,0	1,5	188,40	155,50

TDH = Tempo de Detenção Hidráulica, VSL = Velocidade Superficial do Líquido

4.2. Inoculo e substrato

O experimento realizado no ano de 2016 foi dividido em 4 ensaios. No primeiro ensaio o afluente foi constituído de 95% esgoto sanitário (ES) e 5% resíduos vegetais (RV) (v/v) e nos ensaios seguintes houve a adição de maiores concentrações de RV em relação ao ES no afluente (Tabela 4). A partir do ensaio 2 foi introduzido efluente recirculado (ER) da saída do último reator (R4) como parte constituinte do afluente do sistema, para melhoria da alcalinidade do afluente, onde a parcela referente ao ES foi constituída de 50% ES e 50% ER (Tabela 4). No início dos ensaios 3 e 4 a concentração de RV foi aumentada gradativamente para evitar um possível colapso dos reatores com um choque de altas cargas orgânicas e aumento de ácidos.

Os valores da DQO_{total} do afluente do sistema, divididos pelo TDH resultaram nos valores médios de carga orgânica volumétrica (COV) aplicada no R1, descritos na Tabela 4. Os reatores foram expostos a condições ambientais sem nenhum tipo de controle de temperatura, nos ensaios. As temperaturas médias diárias do ar durante os 4 ensaios, foram coletadas pela Estação Meteorológica do Departamento

de Ciências Exatas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária de Jaboticabal, Brasil, e estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4. Temperatura, proporção de resíduo vegetal (RV), esgoto sanitário (ES) e efluente recirculado (ER) do afluente e carga orgânica volumétrica (COV) aplicada no R1, nos ensaios 1, 2, 3 e 4 para a co-digestão anaeróbia de ES e RV, nos reatores RAHLF, em série.

Ensaio	T _{média} (°C)	Duração (Dias)	RV (%)	ES (%)	ER (%)	COV no R1 (g DQO _{total} (L d) ⁻¹)
Ensaio 1	22,0	119	5	95,0	0	3,9
Ensaio 2	20,5	30	5	47,5	47,5	2,7
Ensaio 3	20,2	13 77	7,5 10	46,2 45,0	46,2 45,0	5,5
Ensaio 4	25,0	12 51	15 20	42,5 40,0	42,5 40,0	10,4

O esgoto sanitário (ES) foi coletado 2 vezes por semana, após gradeamento de sólidos grosseiros e passagem pela caixa de areia, na estação de tratamento municipal de Jaboticabal - SP, que recebe esgoto doméstico e de empresas de pequeno porte. No ES foram observados valores de pH, demanda química de oxigênio (DQO_{total}) e nitrogênio total kjedahl (NTK) foram de 7, 760 e 36 mg L⁻¹, respectivamente.

Os resíduos vegetais (RV) foram coletados em estabelecimento de comércio de frutas e verduras na cidade de Jaboticabal - SP, Brasil, e submetidos ao processo de trituração em liquidificador industrial (frutos inteiros com casca) e posteriormente peneirados em malha quadrada de 2 mm (Figura 6). O afluente foi constituído pela mistura de ES e RV (banana e tomate) em diferentes proporções.

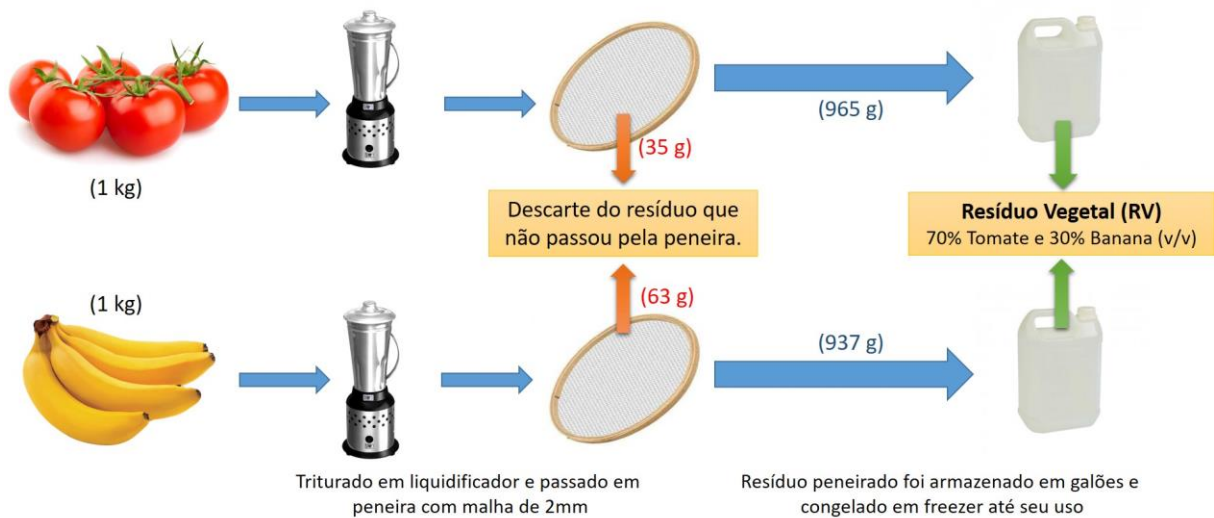


Figura 6. Esquema de preparo dos Resíduos Vegetais (RV)

O RV foi constituído de uma mistura de tomate e banana na proporção (v/v) de 70 e 30%, respectivamente, e misturados após peneiramento (Figura 6). O valor de pH dos RV foi de 4,5, da DQO_{total} foi de 94000 mg L^{-1} , de sólidos totais (ST) foi de 73000 mg L^{-1} , de sólidos voláteis (SV) foi de 65000 mg L^{-1} e 609 mg L^{-1} para NTK.

Para a partida dos reatores RAHLF (R1, R2, R3 e R4), foi utilizado lodo proveniente de um RAHLF que estava operando na digestão anaeróbia de resíduos de suinocultura. Cada reator recebeu lodo anaeróbio suficiente para preencher 30% do seu volume útil (Tabela 3).

4.3 Análises Físico-químicas e Microbiológicas

São apresentados na Tabela 5 os exames físicos e determinações de constituintes orgânicos e inorgânicos que foram efetuadas nas amostras coletadas, a frequência de realização e as fontes das metodologias utilizadas.

A produção de biogás foi determinada pelo volume de biogás produzido diariamente, medindo-se a temperatura do biogás e o deslocamento vertical dos gasômetros (SANTANA e OLIVEIRA 2005).

As análises de composição do biogás foram realizadas semanalmente para determinação dos teores de metano (CH_4). As amostras eram coletadas e posteriormente analisadas em cromatográfico de fase gasosa (APHA; AWWA; WEF, 2005). Como a pressão atmosférica média de Jaboticabal é de $9632,43 \text{ mm coluna}$

de água, resultou na seguinte expressão para a correção do volume de biogás para 0°C e 1 atm.

$$R1, R2, R3 \text{ e } R4 \rightarrow V_0 = \frac{V_1}{T_1} 255,51$$

Tabela 5. Frequências e análises físico-químicas e microbiológicas

Exames e determinações	Frequência	Referências
Afluentes e Efluentes		
pH	2x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Método: 4500H+B)
Alcalinidade total (AT), parcial (AP) e intermediária (AI).	2x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005), JENKINS et al. (1983)
Ácidos voláteis totais	2x semana	DILALLO & ALBERTSON (1961)
Sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV)	2x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Métodos: 2540 – C e 2540 – e)
Sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV)	1x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Método: 2540 – B e 2540 – E)
Demanda química de oxigênio (DQO _{total}); DQO dissolvida (DQO _{diss})	2x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Método: 5220 – B)
NTK, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe, Mn e Zn	1x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Espectrofotômetro de absorção atômica).
Nitrogênio amoniacal (N-am)	2x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Método: semi-micro Kjeldahl).
Fósforo total (P)	1x semana	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Método: colorimétrico empregando metavanadato e molibdato de amônio).
Coliformes totais e termotolerantes	1x por ensaio	APHA, AWWA, WPCF (1998) (Método: Tubos múltiplos)
BIOGÁS		
Produção de Biogás	Diária	SANTANA & OLIVEIRA (2005) (Método: Gasômetros)
Composição do Biogás	Quinzenal	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Método: Cromatografia gasosa)
LODO		
Sólidos totais (ST) e voláteis (SV).	Quinzenal	APHA, AWWA, WPCF (2005) (Método 2540 – B e 2540 – E)

Para o cálculo da produção de biogás, o volume foi corrigido para as condições normais de temperatura e pressão (CNTP, 0°C e 1 atm), e efetuada por meio da expressão que resulta da combinação das leis de Boyle e Gay-Lussac:

$$\frac{V_0 * P_0}{T_0} = \frac{V_1 * P_1}{T_1}$$

Onde:

V_0 = volume corrigido do biogás;

P_0 : pressão corrigida do biogás (10332,72 mm coluna de água);

T_0 : temperatura corrigida do biogás, em K;

V_1 : volume do biogás nas condições de leitura (área do gasômetro multiplicada pela leitura, sendo as áreas de 0,057 m², para os gasômetros dos reatores R1, R2, R3 e R4 respectivamente);

P_1 : pressão do biogás no gasômetro, em mm de coluna de água (pressão atmosférica do local (9632,43 mm)) + pressão interna do gasômetro.

T_1 : temperatura do biogás no instante de leitura, em K.

4.4 Informações do DNA Genômico

As amostras de lodo foram coletadas em seis pontos do R1 aos 136 dias de operação contínua, referindo-se ao ensaio 2. O volume do lodo de cada ponto foi coletado em ordem para a obtenção da mesma quantidade de sólidos voláteis de cada ponto. A partir disto, a amostra de lodo foi misturada para formar uma única amostra composta do R1. Os sólidos totais e voláteis da amostra composta do lodo do R1 apresentaram 15,5 g L⁻¹ e 13,1 g L⁻¹, respectivamente.

A extração do DNA genômico foi realizada com o lodo da amostra composta usando o kit PowerSoil® DNA Isolation Kit (MOBIO Laboratories, Inc), segundo as recomendações do fabricante. Após, o DNA foi estocado a -20 °C. A qualidade do DNA foi analisada pelo equipamento Nanodrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc.) e a integridade foi verificada por gel de agarose a 1% com tampão TAE 1X. A quantidade foi avaliada por fluorimetria através do Qubit® dsDNA HS Assay Kit 100 assays, 0.2–100 ng, segundo as recomendações do fabricante.

4.4.1 PCR em Tempo Real - Absoluta (qPCR)

A qPCR foi realizada com a amostra composta do lodo do R1. Os principais grupos de micro-organismos foram quantificados, dentre eles os Domínios Archaea e Bacteria, as ordens Methanobacteriales, Methanomicrobiales e Methanosarcinales, como também as famílias Methanosarcinaceae e Methanosaetaceae, referentes a ordem Methanosarcinales. As regiões do 16S rDNA foram amplificadas com oligonucleotídeos específicos segundo Song et al. (2010) e Lee et al. (1996) (Tabela 6).

Tabela 6. Oligonucleotídeos específicos

Nome	Função	Microrganismo	Sequencia (5'-3')	Tm °C*
(Song et al., 2010)				
ARC787F	Oligonucleotídeo F	Archaea	ATTAG ATACC CSBGT AGTCC	62 °C
	Oligonucleotídeo R		GCCAT GCACC WCCTC T	
MBT857F	Oligonucleotídeo F	Methanobacteriales	CGWAG GGAAG CTGTT AAGT	57 °C
	Oligonucleotídeo R		TACCG TCGTC CACTC CTT	
MMB282F	Oligonucleotídeo F	Methanomicrobiales	ATCGR TACGG GTTGT GGG	64 °C
	Oligonucleotídeo R		CACCT AACGC RCATH GTTTA C	
Msc380F	Oligonucleotídeo F	Methanosarcinaceae	GAAAC CGYGA TAAGG GGA	57 °C
	Oligonucleotídeo R		TAGCG ARCAT CGTTT ACG	
Mst702F	Oligonucleotídeo F	Methanosaetaceae	TAATC CTYGA RGGAC CACCA	62 °C
	Oligonucleotídeo R		CCTAC GGCAC CRACM AC	
(Lee et al., 1996)				
DB1	Oligonucleotídeo F	Domínio Bacteria	CGGYCCAGACTCCTACGG G	62 °C
DB2	Oligonucleotídeo R	Domínio Bacteria	TTACCGCGGCTGCTGGCA C	

*Tm: Temperatura de anelamento

Anteriormente às amplificações por qPCR, os oligonucleotídeos foram testados e confirmados tanto pelo site Silva TestPrime (<http://www.arb-silva.de/search/testprime/>) quanto por PCR convencional e clonagem dos fragmentos. Os fragmentos foram clonados usando o vetor pGEM®-T Easy Vector System I (Promega, Wisconsin, USA) e inseridos em células competentes *Escherichia coli* DH10β. Os clones positivos foram selecionados, o material de interesse foi enviado para o sequenciamento no CREBIO (Centro de Recursos Biológicos e Biologia Genômica) da FCAV/UNESP de Jaboticabal, SP. Após, as análises das amostras foram realizadas usando a ferramenta BLAST (ALTSCHUL et al., 1997) do banco de dados público NCBI (National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Um e-value abaixo de 10^{-08} foi considerado aceito. Os plasmídeos contendo o inserto de interesse foram quantificados usando o método de fluorometria, descrito anteriormente.

As reações qPCR foram conduzidas no equipamento *Applied Biosystems* 7500 Real-Time PCR. Cada reação consistiu de 6.25µL de Power SYBR Green® MasterMix (Applied Biosystems), oligonucleotídeos em diferentes concentrações (300 nM para Methanobacteriales, Methanosaetaceae, e Methanosarcinaceae; 100 nM para Archaea e Bacteria; 600 nM para Methanomicrobiales), 10ng do DNA metagenômico, e água ultrapura para um volume final de 12.5µL. Todas as reações foram conduzidas em placas de 96 poços no equipamento Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System® apparatus (Applied Biosystems) com as seguintes informações: 2 min a 50 °C; 10 min a 95 °C; e 40 ciclos de 95 °C por 15 seg (desnaturação), 1 min a temperatura de anelamento (Tabela 6), e 30 seg a 78 °C (Extensão). Após estes passos, foi realizado um passo com o aumento da temperatura de 60 a 95 °C, para obter dissociação da curva nos produtos das reações.

O número de cópias de cada amostra foi determinado pela diluição serial da curva padrão com o plasmídeo linearizado 3×10^8 a 3×10^2 (1:10), exceto para a ordem Methanobacteriales, 3×10^8 a 2×10^4 (1:5). Para cada curva padrão, determinamos se a eficiência foi próxima ou igual a 100%. O Ct foi determinado para as amostras e comparado às curvas padrão para determinar o número de cópias em 10 ng de DNA metagenômico. Tendo em conta a massa original do material de

partida, o rendimento de extração de DNA e a diluição do modelo de PCR, o número genes alvos de 16S rDNA foi determinado por mL (lodo), de acordo com (Lunedo et al., 2014 e Duda et al., 2015).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Temperatura

Na Tabela 7 e na Figura 7 estão apresentados os valores das temperaturas do ar mínimas, médias e máximas, observadas na Estação Agroclimatológica da UNESP, Campus de Jaboticabal, durante a operação do sistema de tratamento anaeróbio composto pelos quatro reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF), instalados em série.

Tabela 7. Valores médios das temperaturas do ar máximas, médias e mínimas observadas na Estação Agroclimatológica do Câmpus de Jaboticabal, durante a operação dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série durante os ensaios de 1 a 4.

Ensaio	Período (2016)	Temperatura do Ar (C°)		
		Mínima	Média	Máxima
Ensaio 1	02/03 a 15/06	15,6 ^b	22,0 ^b	30,2 ^b
Ensaio 2	16/06 a 15/07	12,3 ^c	20,5 ^c	28,5 ^b
Ensaio 3	16/07 a 14/10	14,1 ^c	20,2 ^b	28,5 ^b
Ensaio 4	15/10 a 17/12	17,6 ^a	25,0 ^a	31,2 ^a
c.v. (%)	-	18,3	12,9	11,9
Teste F	-	44,63**	19,5**	8,44**

c.v. – coeficiente de variação; Letras minúsculas diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$).

As maiores médias de temperaturas ocorreram no ensaio 4, que ocorreu nos meses de outubro a dezembro, com média de 25°C, que foi significativamente superior aos outros ensaios ($p < 0,01$). O menor ($p < 0,01$) valor médio de temperatura foi de 20,5°C no ensaio 2, que ocorreu nos meses de junho a julho.

Observa-se na figura 7 que a temperatura média durante a maior parte do trabalho se manteve entre 20 e 25°C, que se enquadra na faixa de crescimento de organismos mesofílicos (JAIN et al., 2015; SCHUNURER; JARVIS, 2009).

Chernicharo (2007) delimita como limite mínimo da faixa mesófila, 20°C. Portanto os reatores RAHLF trabalharam na maior parte do tempo nesta faixa de temperatura. Alguns dias foram registradas temperaturas mínimas correspondentes a faixa psicrófila (abaixo de 15°C), mas foram exceções (Figura 7).

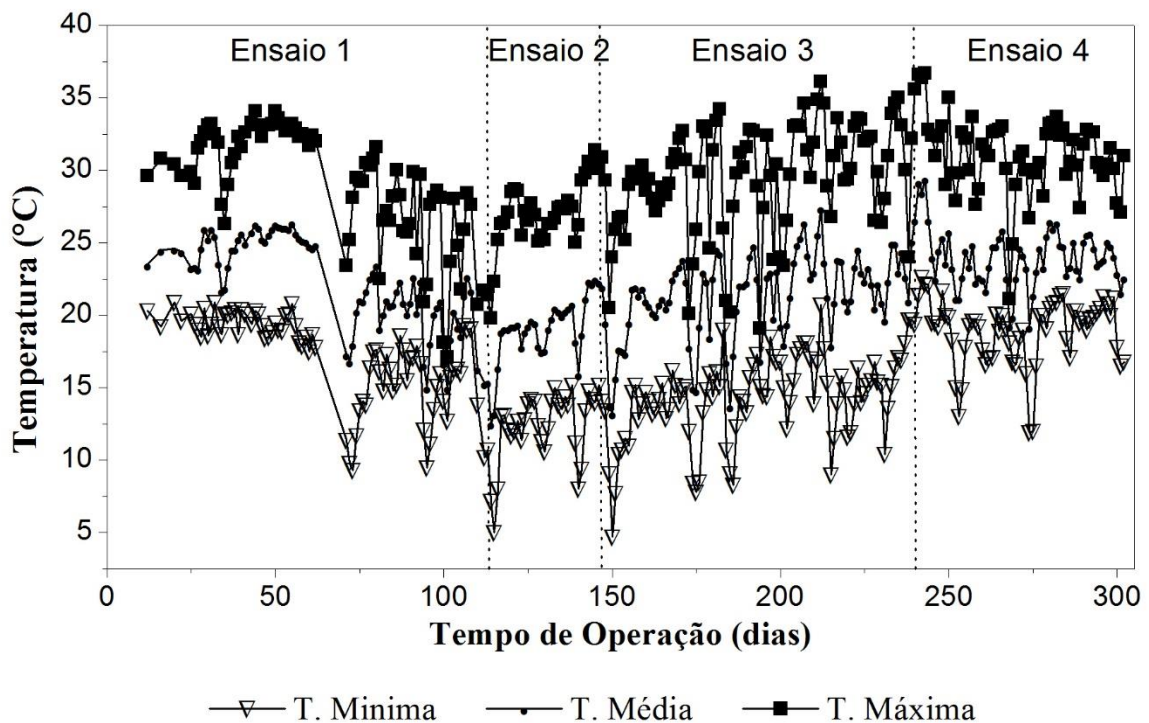


Figura 7. Temperaturas mínimas, médias e máximas do ar observadas na Estação Agroclimatológica durante os ensaios 1 a 4.

5.2 Valores de pH, alcalinidade e ácidos voláteis totais

O valor de pH no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios é um parâmetro importante para avaliação da estabilidade, pois tem grande impacto na ação dos micro-organismos acidogênicos e metanogênicos (SHI et al., 2014). No ensaio 1, com a utilização de 5% resíduo vegetal (RV) e 95% esgoto sanitário (ES), foram observados valores de pH do afluente de 4,8 (Tabela 8). O ES possuía pH na faixa da neutralidade e o caráter ácido do afluente ocorreu em virtude dos RV que possuíam pH, de aproximadamente 4,5. Nos ensaios 2, 3 e 4 com a recirculação do efluente do R4, os valores de pH do afluente aumentaram para valores médios de 5,4 a 5,5.

Tabela 8. Valores médios de pH, ácidos voláteis totais (AVT), alcalinidade parcial (AP) e relação entre a alcalinidade intermediária e parcial (AI/AP) no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série durante os ensaios de 1 a 4.

Parâmetros	Ensaio				c.v. (%)	Teste F	
	1	2	3	4			
pH	Afluente	4,8 b	5,4 a	5,5 a	5,2 a	7	19,3**
	R1	7,2 b	7,9 a	7,9 a	7,9 a	5	23,5**
	R2	7,9 b	8,1 ab	8,0 ab	8,1 a	3	4,5**
	R3	8,1 b	8,1 ab	8,2 ab	8,3 a	2	7,1**
	R4	8,1 c	8,1 c	8,3 b	8,5 a	2	25,3**
AVT (mg L ⁻¹)	Afluente	827 c	852 c	1643 b	2696 a	21	147,3**
	R1	604 b	305 c	596 b	949 a	41	12,1**
	R2	178 ab	58 b	203 ab	298 a	79	4,4**
	R3	152 a	64 b	93 b	99 ab	59	5,8**
	R4	153 a	73 b	74 b	81 b	40	21,2**
AP (mg L ⁻¹)	Afluente	0 b	3 ab	50 a	11 ab	334	3,0*
	R1	324 c	632 b	906 b	1306 a	36	54,6**
	R2	1027 b	781 b	1231 b	1935 a	35	17,9**
	R3	1241 b	755 b	1302 b	2160 a	39	14,8**
	R4	1726 a	741 b	1222 b	1969 a	48	7,4**
AI/AP	R1	1,52 a	0,37 b	0,59 b	0,71 b	65	14,8**
	R2	0,13 a	0,09 a	0,23 a	0,18 a	99	2,3 ns
	R3	0,10 a	0,07 a	0,09 a	0,08 a	47	1,7 ns
	R4	0,09 a	0,08 ab	0,07 b	0,07 b	33	4,0*

c.v. – coeficiente de variação; Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$).

Os valores médios de pH do efluente dos RAHLF variaram de 7,2 a 8,5 (Tabela 8). Esta faixa de pH é considerada adequada para digestão anaeróbia (TIAN et al., 2015), e observamos na Figura 8 que estes valores foram estáveis e se

mantiveram sempre acima do valor de pH do afluente, mesmo com a adição de maiores quantidades de RV, no ensaio 4. Isto ocorreu, provavelmente, em virtude da recirculação do efluente do R4, que forneceu alcalinidade ao afluente, pois o pH do reator anaeróbio é fortemente dependente da capacidade de tamponamento deste sistema (ESPINOZA-ESCALANTE et al., 2009; ZHAI et al., 2015).

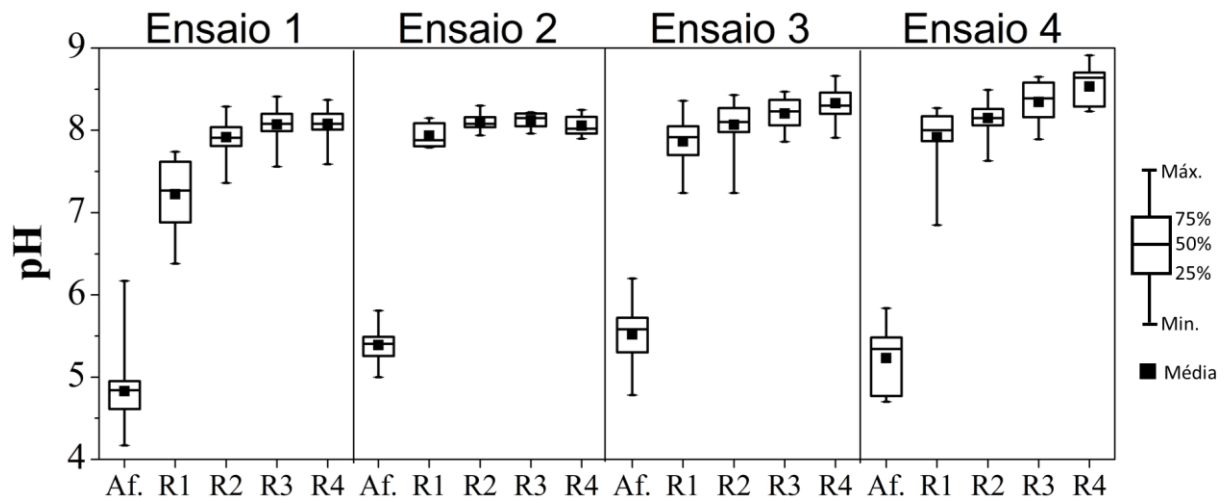


Figura 8. pH no Afluente e efluentes dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (R1, R2, R3 e R4), instalados em série nos ensaios de 1 a 4.

Os reatores de fluxo pistonado, como os RAHLF, apresentam na região de entrada do afluente micro-organismos hidrolíticos com capacidade de altas conversões de DQO em AVT, principalmente, para substratos com alta biodegradabilidade como o RV. Caso haja déficit de alcalinidade no afluente, poderá ocorrer acúmulo destes ácidos nesta região e, conseqüentemente, a inibição dos micro-organismos metanogênicos. Portanto, a partir do segundo ensaio, com a recirculação do efluente do R4, foram observados valores médios de alcalinidade parcial (AP) no afluente de 3, 50 e 11 mg $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, nos ensaios 2, 3 e 4, respectivamente. O decréscimo da AP no ensaio 4 ocorreu em virtude do aumento do RV e decréscimo nas taxas de recirculação do afluente. Isto indica que a recirculação proporciona o aumento nos valores de pH, como também observado por Zuo et al., (2013) e Lin et al., (2011).

As maiores médias de AP foram encontradas no R3, de 1241, 755, 1302 e 2160 mg $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, nos ensaios 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Na digestão de resíduos orgânicos, Chen et al. (2008) indicam como uma faixa ideal de AP de 2000

a $4000 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, para evitar o conseqüente acúmulo de AVT. Porém na co-digestão com ES e a configuração de RAHLF em série, mesmo com valores inferiores de AP, não foram observados acúmulos de AVT nos reatores.

A co-digestão de ES e RV nos reatores RAHLF foram eficientes na remoção dos AVT, que decresceram de 827 mg L^{-1} no afluente para 153 mg L^{-1} no efluente do R4, no ensaio 1. Nos ensaios 2 e 3, os valores médios de AVT decresceram de 852 e 1643 mg L^{-1} no afluente para o 73 e 74 mg L^{-1} no efluente do R4. Os maiores consumos de AVT foram observados no ensaio 4, que decresceram de 2696 para 81 mg L^{-1} , do afluente do R1 para o efluente do R4 (Tabela 8). No ensaio 4 também foram observadas as maiores produções volumétricas de metano (Figura 13) o que pode explicar o maior consumo de AVT no R1 (Tabela 8).

Na Figura 9 observa-se que a relação entre AVT e AP, no efluente dos RAHLF, R1, R2, R3 e R4, nos quatro ensaios, o que indica que mesmo com o aumento da proporção de RV, o sistema foi capaz de produzir alcalinidade evitando a acidificação do sistema. Mazareli et al. (2016) na co-digestão de água residuária da suinocultura com resíduos vegetais, também obteve AP de 1210 a $3228 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ e os AVT foram de 1067 para 4441 mg L^{-1} , mesmo com uma proporção de 30% de RV no afluente do tratamento com uma COV de $11 \text{ g DQO}_{\text{total}} (\text{Ld})^{-1}$.

Outro fator indicativo da estabilidade do sistema foi o consumo de ácidos e tamponamento, verificados pela relação Al/AP , que nos reatores R2, R3 e R4 se mantiveram na faixa de 0,07 a 0,23 durante os quatro ensaios. Ripley et al. (1986) indicam que valores na relação Al/AP acima de 0,3 é um indicativo de distúrbios no reator anaeróbico. Porém Foresti, (1994) diz que é possível ocorrer estabilidade em reatores que apresentam uma relação Al/AP acima de 0,3, o que foi o observado neste trabalho no R1, com valores 1,52; 0,37; 0,59 e 0,71; nos ensaios 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Mesmo com valores acima de 0,3 para a relação Al/AP no R1, que ocorreu em virtude das maiores COV, foram observadas reduções dos AVT (Figura 9). No R1 não foram observados decréscimos abruptos de pH, e a recirculação de efluente é um dos fatores que podem ter contribuído diretamente para esta estabilidade.

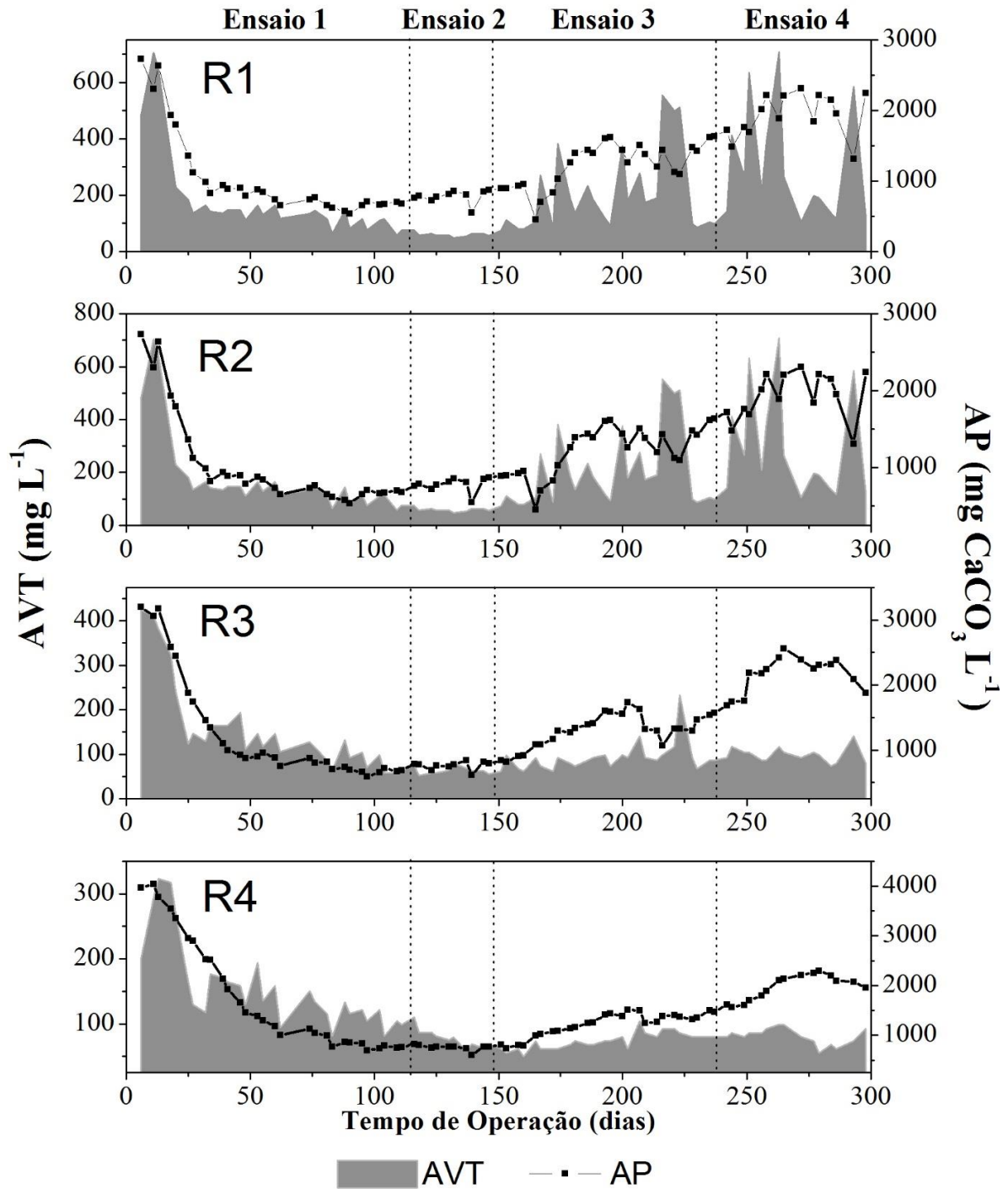


Figura 9. Ácidos voláteis totais (AVT) versus alcalinidade parcial (AP) no sistema de tratamento, composto pelos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) (R1, R2, R3 e R4) instalados em série, durante os ensaios 1, 2, 3 e 4.

5.3 Características do afluente e efluentes e remoção de material orgânico

5.3.1 Demanda Química de Oxigênio (DQO)

O aumento gradual da proporção do RV, de 5% para 20%, do ensaio 1 para o ensaio 4, proporcionaram o aumento da DQO_{total} e DQO_{diss} do afluente para valores próximos a 16000 e 9000 $mg L^{-1}$, respectivamente (Tabela 9). No efluente do R4, nos quatro ensaios, foram observados valores de DQO_{total} inferiores a 500 $mg L^{-1}$ e de DQO_{diss} inferiores a 350 $mg L^{-1}$, confirmando a importância dos reatores em série para a remoção de DQO.

Tabela 9. Valores médios e coeficiente de variação da carga orgânica volumétrica (COV), demanda química de oxigênio total (DQO_{total}) e demanda química de oxigênio dissolvida (DQO_{diss}) no afluente e nos efluentes dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série, durante os ensaios de 1 a 4.

Parâmetros	Ensaio				C.V. (%)	Teste F	
	1	2	3	4			
COV (g DQO_{total} ($L d^{-1}$) R1 R2 R3 R4	R1	3,95 c	2,69 c	5,49 b	10,36 a	30	59,8**
	R2	0,79 bc	0,42 c	1,04 b	2,29 a	45	36,7**
	R3	0,13 b	0,07 b	0,26 b	0,70 a	75	29,0**
	R4	0,08 a	0,04 a	0,09 a	0,13 a	86	2,3 ns
DQO_{total} ($mg L^{-1}$) Afluente R1 R2 R3 R4	Afluente	5920 c	4042 c	8235 b	15539 a	30	59,8**
	R1	1745 bc	927 c	2290 b	5043 a	45	36,7**
	R2	424 b	237 b	827 b	2245 a	75	29,0**
	R3	331 a	177 a	364 a	516 a	86	2,3 ns
	R4	366 a	167 a	253 a	430 a	84	2,5 ns
DQO_{diss} ($mg L^{-1}$) Afluente R1 R2 R3 R4	Afluente	-	2465 c	4422 b	8891 a	30	50,4**
	R1	-	874 c	1779 b	2579 a	38	15,1**
	R2	-	197 c	700 b	1090 a	57	11,7**
	R3	-	136 c	311 b	446 a	48	10,1**
	R4	-	132 b	215 b	339 a	55	7,0**

c.v. – coeficiente de variação; Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$).

As COV aplicadas nos ensaios 1 e 2 foram similares para os reatores R1, R2, R3 e R4. E com o aumento da proporção de RV, para 20%, no ensaio 4, no afluente foi verificado COV de até 10,36; 2,29; 0,70 e 0,13 g DQO_{total} (L d)⁻¹, no R1, R2, R3 e R4, respectivamente.

No efluente do R1 foram observados valores médios de DQO_{total} de 1745, 927, 2290 e 5043 mg L⁻¹ nos ensaios 1, 2, 3 e 4, respectivamente; e de DQO_{diss} de 874, 1779 e 2579 nos ensaios 2, 3 e 4. Nos reatores R3 e R4, não foram observadas diferenças significativas nos valores de DQO_{total} do efluente, entre os ensaios, mesmo com o aumento da proporção de RV para valores de até 20%, no afluente do R1. Para os valores de DQO_{diss}, com o aumento da proporção do RV, foram observados aumentos no R3 e R4, nos ensaios 3 e 4.

A relação DQO_{diss}/DQO_{total} no afluente foram de 0,60; 0,53 e de 0,57, nos ensaios 2, 3 e 4. No efluente do R4, a relação DQO_{diss}/DQO_{total} aumentou para 0,79; 0,84 e 0,79, indicando a importância dos reatores em série, na hidrólise dos DQO de sólidos suspensos.

Observa-se pela Figura 10 A e B, que as menores variações de DQO_{total} e DQO_{diss} ocorreram no ensaio 2, para o afluente e efluentes dos reatores R1, R2, R3 e R4.

No R1, no ensaio 2, com COV de 2,69 g DQO (L d)⁻¹ (Tabela 9) obtiveram-se remoções médias de DQO_{total}, de até 76% (Figura 11 e Tabela 10). As menores COV aplicadas, em virtude das maiores proporções de ER (47,5%) podem ter favorecido a remoção de DQO. Observa-se que as remoções de DQO_{total} no R2 decresceram de 80,4 para 52,7%, o que proporcionou o aumento na remoção de DQO_{total} no R3 de 21,4 para 73,6%, nos ensaios 1 ao 4 (Tabela 10 Figura 11), com o aumento da proporção de RV. O decréscimo da eficiência na remoção de DQO_{total} nos primeiros reatores do sistema com o aumento da proporção de RV, também foi observado por Mazareli et al., (2016), que na co-digestão de RV com água residuária de suinicultura em RAHLF instalados em série, com o aumento da proporção de RV de 0 para 20% obteve uma queda na remoção de DQO_{total} de 72 para 7% no R1. Na digestão anaeróbia de RV, Zuo et al., (2013) observaram no lodo a predominância de bactérias fermentativas, esse desenvolvimento pode ser estimulado devido as

altas concentrações de carboidratos nos RV, favorecendo assim a hidrólise no R1, o que pode explicar a menor remoção de DQO_{total} no R1 e R2.

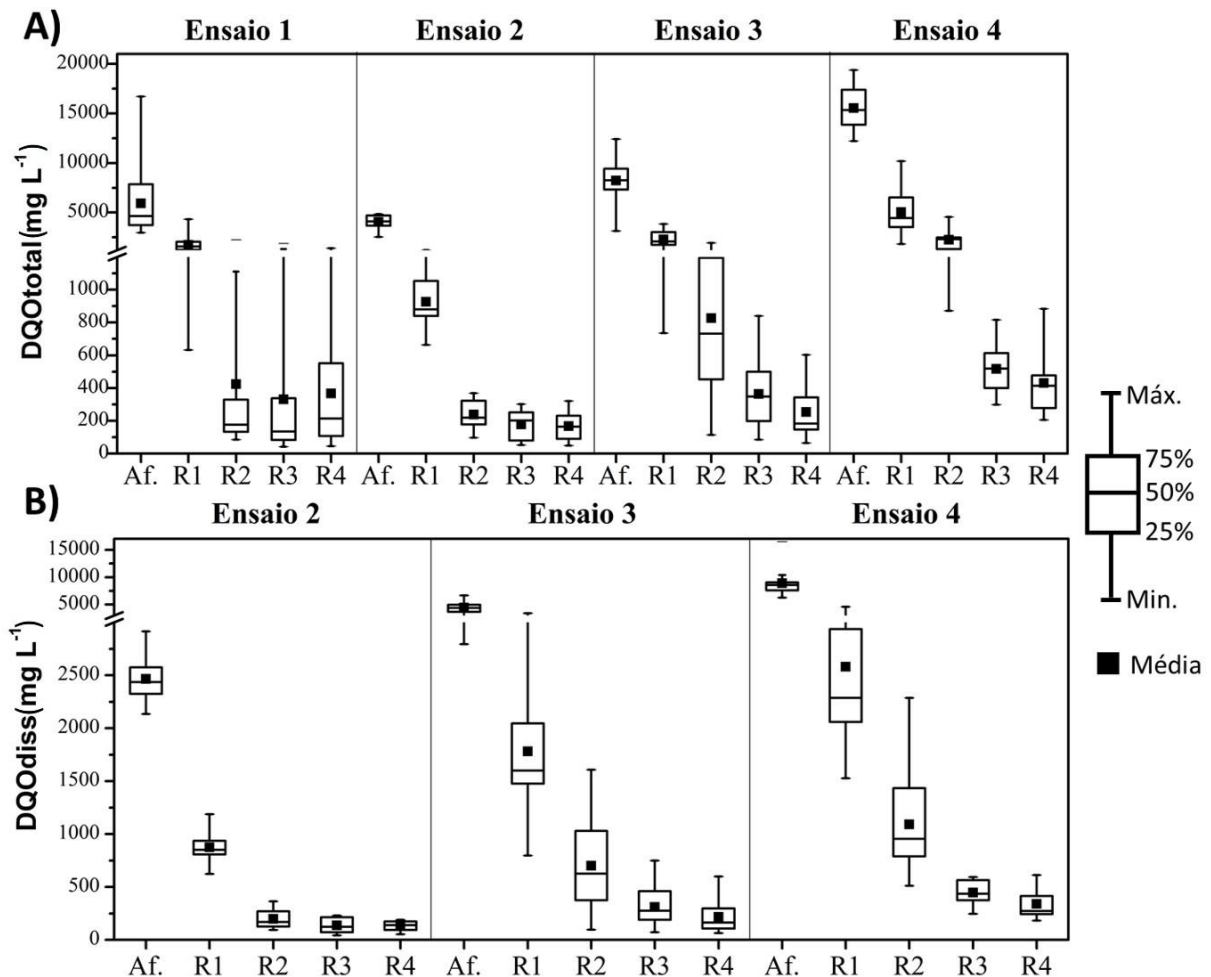


Figura 10. Valores médios de DQO_{total} (A) e DQO_{diss} (B) e respectivos coeficientes de variação no sistema de tratamento dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) (R1, R2, R3 e R4) instalados em série, durante os ensaios 1 a 4.

As maiores ($p < 0,05$) remoções de DQO_{diss} ocorreram no R1 com 70,7% no ensaio 4 e no R2 no ensaio 2 com remoção média de 77,6%.

Observa-se que os reatores R1+R2 foram responsáveis por remoções de DQO_{total} e DQO_{diss} superiores a 85%, nos ensaios 1, 2, 3 e 4, sendo os ensaios 3 e 4 significativamente superiores ($p < 0,05$) (Tabela 10). Riggio et al., (2015) atingiram valores inferiores de remoção na co-digestão de esterco bovino, bagaço de azeitona e polpa de maçã, utilizando a proporção de 85:10:5 (%v:%v), com o máximo de remoção de DQO de 63% em um reator operado em batelada, aplicando-se o TDH

de 30 dias e COV 2,65 g DQO (L d)⁻¹. Isto confirma as vantagens de reatores anaeróbios contínuos em série para a co-digestão de RV e ES, pois possibilitam a melhoria na remoção de matéria orgânica em menor tempo, e o aumento da proporção de RV.

Tabela 10. Valores médios e coeficiente de variação (c.v.) das eficiências de remoção de demanda química de oxigênio total (DQO_{total}) e dissolvida (DQO_{diss}) nos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série durante os ensaios de 1 a 4.

Parâmetros		Ensaio				c.v. (%)	Teste F
		1	2	3	4		
Eficiência de Remoção de DQO _{total} (%)	R1	67,4 ^a	75,7 ^a	71,5 ^a	67,9 ^a	17	1,3 ^{ns}
	R2	80,4 ^a	74,8 ^{ab}	65,5 ^{bc}	52,7 ^c	22	12,2 ^{**}
	R3	21,4 ^c	19,1 ^c	51,2 ^b	73,6 ^a	59	19,9 ^{**}
	R4	-	-	29 ^a	19 ^a	25	17,8 ^{**}
	R1+R2	92,3 ^a	93,7 ^a	90,1 ^a	85,3 ^a	9	3,0 ^{**}
	R1+R2+R3	94,1 ^a	95,3 ^a	95,6 ^a	96,6 ^a	6	0,8 ^{ns}
	R1+R2+R3+R4	93,2 ^a	95,4 ^a	97,0 ^a	97,2 ^a	5	3,2 [*]
Eficiência de Remoção de DQO _{diss} (%)	R1	-	64,1 ^{ab}	58,8 ^b	70,7 ^a	18	4,8 [*]
	R2	-	77,6 ^a	62,1 ^{ab}	55,5 ^b	26	4,7 [*]
	R3	-	25,6 ^b	50,4 ^a	54,7 ^a	52	3,9 [*]
	R4	-	-	29,6 ^a	25,3 ^a	128	9,4 ^{**}
	R1+R2	-	91,8 ^a	84,7 ^b	87,7 ^{ab}	7	4,1 [*]
	R1+R2+R3	-	94,5 ^a	93,2 ^a	94,8 ^a	3	1,5 ^{ns}
R1+R2+R3+R4	-	94,6 ^a	95,4 ^a	96,0 ^a	2	0,9 ^{ns}	

c.v. – coeficiente de variação; Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$).

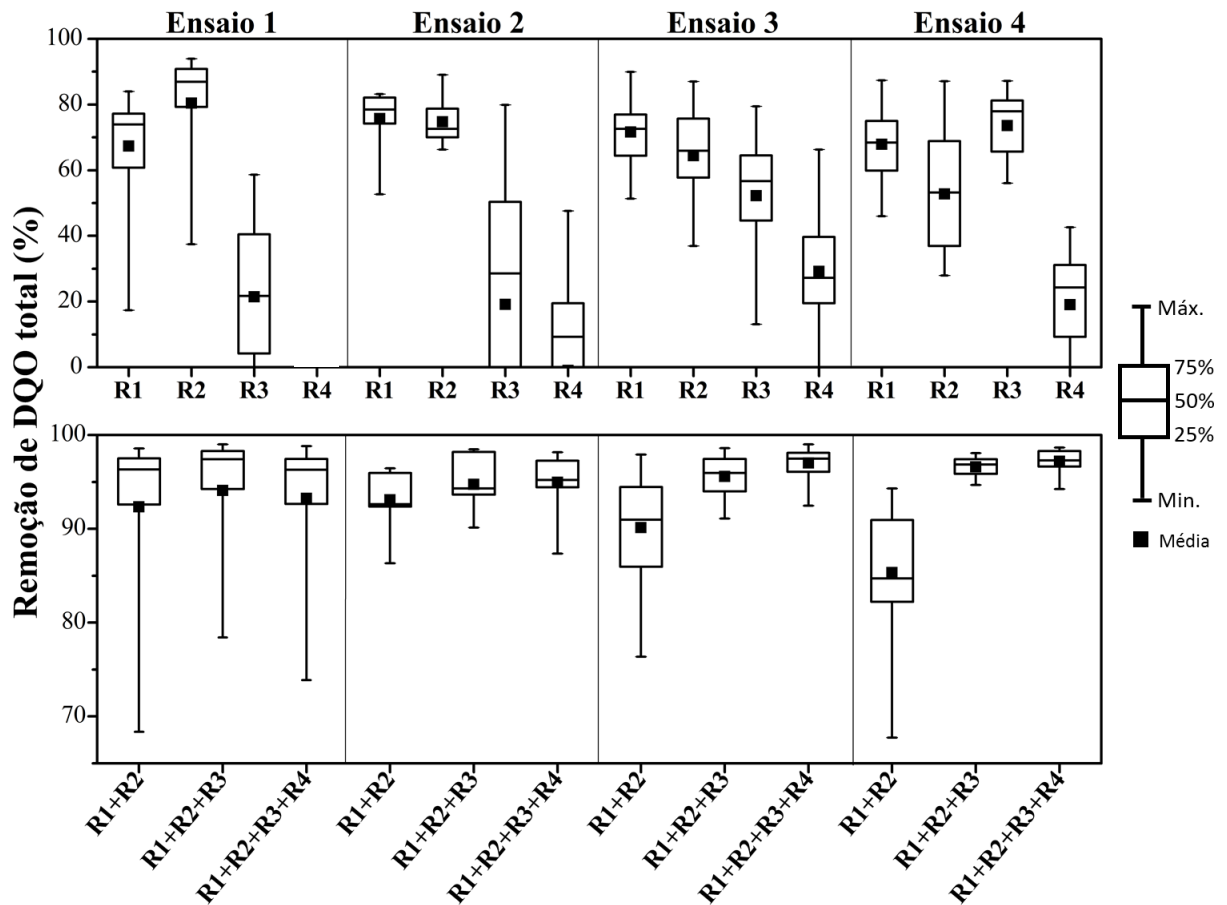


Figura 11. Eficiências médias de remoção de DQO_{total} e respectivos coeficientes de variação no sistema de tratamento dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) (R1, R2, R3 e R4) instalados em série, durante os ensaios 1 a 4.

No sistema R1+R2+R3 foram observadas as maiores remoções de DQO, e não houve diferenças significativas entre os ensaios. O remanescente de material orgânico para o R4 foi baixo, principalmente nos ensaios 1 e 2, o que contribuiu para as baixas remoções de DQO neste reator. Mazareli et al. (2015), obtiveram remoção de até 58% de DQO_{total} no R4, mas também foram inferiores aos valores observados nos reatores R1, R2 e R3. Comportamento semelhante foi observado por Santos e Oliveira (2011), que trabalhando com quatro RAHLF (R1, R2, R3 e R4), em série, no tratamento de água residuária de suinocultura, observaram remoções de DQO_{total} de 54% no R4, trabalhado com uma COV de $52,7 \text{ g } DQO_{total} (\text{L d})^{-1}$, superior ao presente trabalho. Portanto, observa-se que para as frações de RV utilizadas neste trabalho, de até 20%, a DQO_{total} e DQO_{diss} foi praticamente removida no R1, R2 e R3, indicando que as proporções de RV ainda poderiam ser aumentadas, para se atingir maiores COV nos últimos reatores.

Neste trabalho, com a aplicação do TDH de 10,9 dias, as remoções de DQO_{total} para o sistema constituído pelos reatores anaeróbios R1+R2+R3+R4 foram estáveis, de 93,2, 95,4, 97,0 e 97,2%, nos ensaios 1, 2, 3 e 4, respectivamente (Tabela 10) e não foram observadas diferenças estatísticas significativas, entre os ensaios. Observando-se as remoções de DQO_{total} e DQO_{diss} para o sistema R1+R2+R3+R4 observa-se que no ensaio 4, foram observadas as menores variações (Figuras 11 e 13).

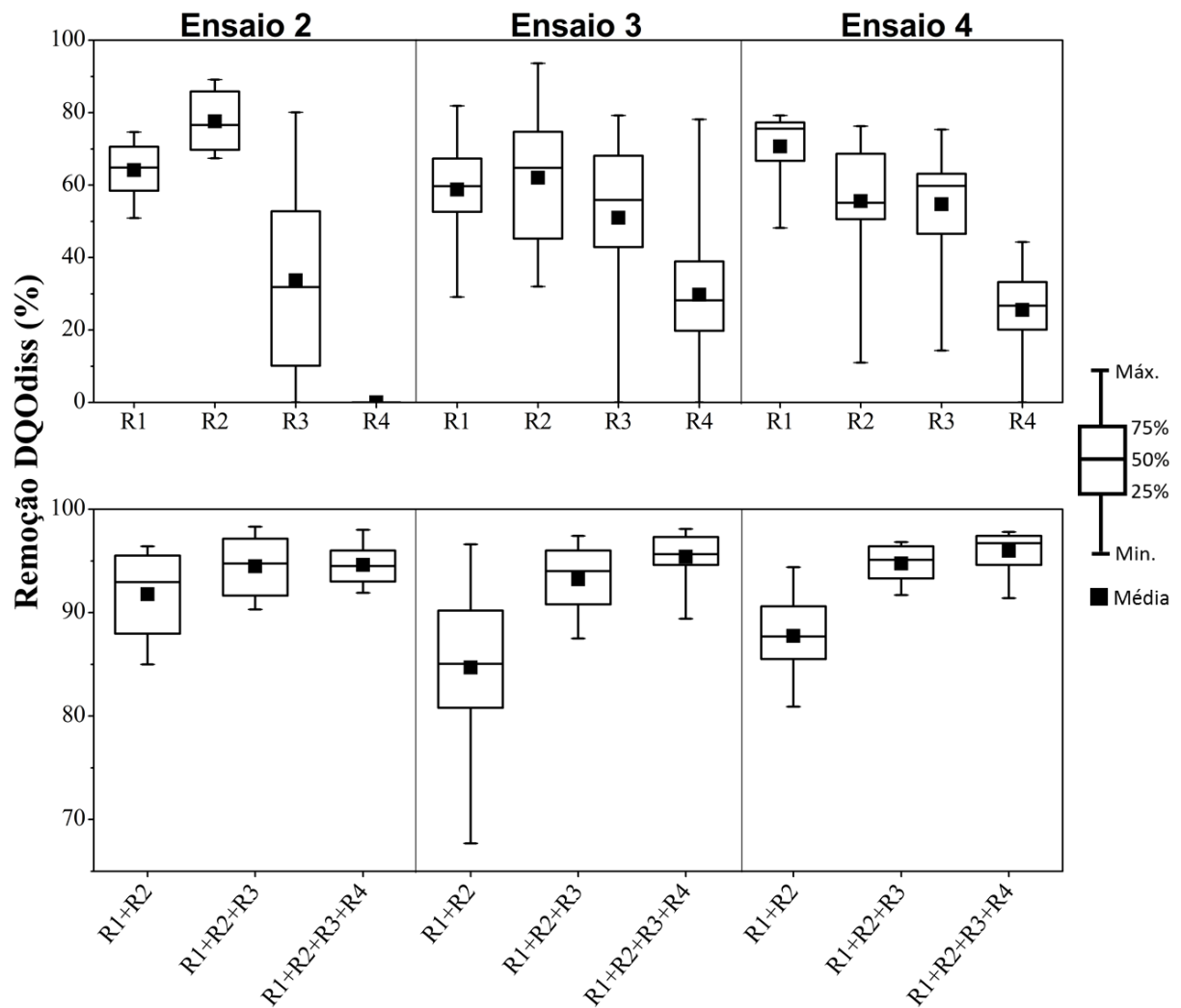


Figura 12. Eficiências médias de remoção de demanda química de oxigênio dissolvida (DQO_{diss}) e respectivos coeficientes de variação no sistema de tratamento dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) (R1, R2, R3 e R4) instalados em série, durante os ensaios 1 a 4.

Isto pode ter ocorrido em virtude da adaptação dos micro-organismos as maiores proporções de RV e também neste ensaio foram observadas as maiores temperaturas médias do ar, de 25°C (Tabela 7). Resultados semelhantes foram obtidos por Mazareli et al. (2016) com 93, 92, 94 e 94% de remoção de DQO_{total} para o mesmo sistema estudado neste trabalho, trabalhando com a co-digestão de águas residuárias de suinocultura e RV na proporção de até 70:30 (%v:%v). Para a DQO_{diss} os autores observaram remoções de até 89%, que são superiores as observadas neste trabalho.

5.3.2 Sólidos totais (ST), fixos (SF) e voláteis (SV) e sólidos suspensos totais (SST), fixos (SSF) e voláteis (SSV) no afluente e efluentes dos reatores anaeróbios horizontais.

O esgoto sanitário possui quantidade reduzida de sólidos (LAMEGO NETO; COSTA, 2011), portanto, a maior parte do SV constituinte do afluente foi proveniente dos RV (Tabela 11). Com o aumento da proporção de RV as concentrações médias de ST e SV no afluente foram de 2961 e 2560 mg L⁻¹ no ensaio 1 para 10516 e 7497 mg L⁻¹ no ensaio 4 (Tabela 11). As maiores ($p < 0,01$) concentrações de sólidos totais e voláteis foram encontradas no ensaio 4, em virtude da maior proporção, de 20% de RV, na constituição do afluente. As relações SV/ST no afluente foram de 0,86; 0,64; 0,72 e 0,71, nos ensaios 1, 2, 3 e 4, respectivamente, indicando a predominância de sólidos voláteis no afluente, o que pode indicar maiores quantidades de matéria orgânica passível de ser degradada e convertida em metano. No efluente do R4 os valores médios da relação SV/ST foram de 0,51; 0,40; 0,53 e 0,25, indicando a maior parte dos SV foi degradada no conjunto de reatores.

As médias de SST no afluente foram de 1494 a 4963 mg L⁻¹ nos ensaios de 2, 3 e 4 (Tabela 11). As maiores ($p < 0,01$) concentrações de SSV foram 4555 mg L⁻¹ encontradas no afluente, no ensaio 4.

É possível estabelecer uma relação entre a degradação do afluente, produção de CH₄ e estabilidade do sistema de RAHLF na co-digestão através do decréscimo visualizado no DQO_{total}, DQO_{diss}, ST, SV, SST, SSV do afluente até o efluente do R4, que nos indica que a microbiota dos reatores converteu a DQO_{total} e SV em AVT, e posteriormente em metano.

Tabela 11. Valores médios e coeficiente de variação de sólidos totais (ST), voláteis (SV) e fixos (SF), sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF) no afluente e nos efluentes dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série, durante os ensaios de 1 a 4.

Parâmetros		Ensaios								c.v. (%)	Teste F
		1		2		3		4			
ST (mg L ⁻¹)	Afluente	2961	b	2185	b	4660	b	10516	a	33	40,1**
	R1	1436	c	1104	c	2559	b	5052	a	29	45,9**
	R2	1113	c	1443	bc	1880	b	4250	a	27	55,9**
	R3	1343	b	1384	b	1752	b	3485	a	22	44,9**
	R4	1386	b	992	b	1753	b	2926	a	33	14,5**
SV (mg L ⁻¹)	Afluente	2560	b	1398	b	3665	b	7497	a	36	27,9**
	R1	984	bc	417	c	1425	b	2579	a	36	22,0**
	R2	578	b	685	b	956	b	1663	a	48	10,1**
	R3	818	a	729	a	821	a	899	a	49	0,2 ^{ns}
	R4	704	a	401	a	933	a	721	a	67	1,2 ^{ns}
SF (mg L ⁻¹)	Afluente	401	c	786	bc	1295	b	3018	a	40	44,0**
	R1	451	c	687	bc	1133	b	2473	a	34	47,5**
	R2	535	b	757	b	924	b	2587	a	39	39,6**
	R3	525	b	655	b	931	b	2587	a	43	33,1**
	R4	683	b	591	b	820	b	2205	a	41	25,3**
SST (mg L ⁻¹)	Afluente	-		1494	c	2616	b	4963	a	31	35,12**
	R1	-		61	b	342	b	1455	a	66	37,30**
	R2	-		21	b	119	b	814	a	95	27,50**
	R3	-		14	b	30	b	70	a	76	10,38**
	R4	-		8	c	35	b	54	a	53	11,70**
SSV (mg L ⁻¹)	Afluente	-		1427	b	2274	b	4555	a	32	35,77**
	R1	-		59	b	280	b	312	a	71	35,82**
	R2	-		19	b	97	b	730	a	88	34,48**
	R3	-		13	b	19	b	56	a	102	7,45**
	R4	-		7	b	23	b	41	a	72	7,66**
SSF (mg L ⁻¹)	Afluente	-		67	b	343	a	408	a	68	5,10*
	R1	-		2	b	62	b	143	a	114	6,25**
	R2	-		2	a	23	a	84	a	184	4,25*
	R3	-		0,9	b	11	ab	14	a	106	2,99 ^{ns}
	R4	-		2	a	12	a	14	a	104	2,47 ^{ns}

c.v. – coeficiente de variação; Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$).

As maiores remoções de SV ocorreram no R1, de 55, 68, 54 e 65% nos ensaios de 1 a 4, respectivamente, mesmo sendo empregado neste reator a velocidade superficial de líquido (VSL) de 4 m d⁻¹. Mazareli et al., (2016) relataram o arraste de sólidos no efluente utilizando uma VSL de 3 e 1,3 m d⁻¹ no R1 e R2,

respectivamente, na co-digestão de RV com água residuária de suinocultura, com teores de SST de 2690 a 9560 mg L⁻¹. O uso de um efluente com baixa concentração de sólidos na co-digestão, como o ES, ao contrário da água residuária de suinocultura, pode ter contribuído para evitar este arraste.

Nos ensaios 1, 2 e 3, principalmente no R3, foram observados arrastes de sólidos (Tabela 12), como pode ser observado pela inexistência de remoções de ST e SV (Tabela 12). O aumento da proporção de RV e das temperaturas médias do ar (Tabela 7), além da aclimação dos micro-organismos as condições operacionais aplicadas no ensaio 4, contribuiu para as remoções médias de SV de 34 e 52%, no R2 e R3, respectivamente. Molinuevo-Salces et al., (2013), também obtiveram aumentos nas remoções de SV de 62% para 85%, com o acréscimo na proporção de RV no afluente de 25% para 75% na co-digestão com água residuária de suinocultura e avicultura com resíduos vegetais, mostrando que o aumento da matéria orgânica provinda dos resíduos vegetais propicia condições adequadas para estabelecimento da microbiota anaeróbia.

No sistema R1+R2+R3 e R1+R2+R3+R4, no ensaio 4, foram observadas as maiores ($p < 0,01$) remoções médias de SV, com valores de 87,6 e 90,4%, respectivamente. Mazareli (2015), utilizando o mesmo sistema de RAHLF em série, obteve uma média de remoção de SV de 97% no sistema R1+R2+R3+R4, na co-digestão com água residuária de suinocultura com 20% de RV e COV 5,2 g DQO_{total} (L d)⁻¹. A menor COV aplicada e o maior TDH de 21 dias, dobro do tempo utilizado neste estudo (10,9 d), podem ter favorecido para que a autora obtivesse maiores níveis de remoção de SV.

As médias de remoção de SSV no R1 decresceram de 95,7% para 71,6% nos ensaios de 2 a 4, mas não apresentaram diferenças significativas entre si. As maiores ($p < 0,05$) remoções no R2, foram observadas nos ensaios 2 e 3, com valores de 69,6 e 59,4%, e o decréscimo da eficiência para 35,4% no ensaio 4, pode ter ocorrido em virtude das maiores proporções de RV e conseqüente aumento das COV aplicadas.

Tabela 12. Valores médios das eficiências de remoção de sólidos totais (ST) e voláteis (SV) e sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV) e seus respectivos coeficientes de variação (c.v.) nos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série durante os ensaios de 1 a 4.

Parâmetros	Ensaios				C.v. (%)	Teste F	
	1	2	3	4			
Remoção de ST (%)	R1	44,7 a	49,3 a	42,8 a	50,6 a	37	0,42ns
	R2	18,7 ab	0 c	23 a	15 ab	135	8,46**
	R3	0 c	0 c	0,5 a	16,8 a	625	4,31*
	R4	0 b	28,5 a	2,5 a	16 a	758	1,97ns
	R1+R2	55,8 a	33,8 a	55,5 a	58,6 a	31	2,27ns
	R1+R2+R3	47,7 bc	36,5 c	59,5 ab	66,6 a	26	5,62**
	R1+R2+R3+R4	45,5 b	54,5 ab	61,6 ab	71,9 a	31	4,01*
Remoção de SV (%)	R1	51,3 a	68,0 a	54,4 a	64,5 a	39	0,99ns
	R2	42,5 a	0 b	29,2 a	33,8 a	102	13,58**
	R3	0 b	0 b	0 b	51,8 a	399	3,47*
	R4	0 b	43,3 a	0 b	0 b	669	1,11ns
	R1+R2	73,4 a	47,8 a	68,7 a	76,9 a	28	2,17ns
	R1+R2+R3	62,4 bc	45,5 c	73,3 ab	87,6 a	21	8,61**
	R1+R2+R3+R4	69,4 b	69,5 ab	70,1 ab	90,4 a	21	3,87**
Remoção de SST (%)	R1	-	95,8 a	84,3 a	71,1 b	17	7,53**
	R2	-	65,9 a	60,1 a	36,2 b	45	5,44**
	R3	-	42,6 b	71,4 a	88,2 a	31	8,98**
	R4	-	0 b	0 b	3,4 a	367	4,33*
	R1+R2	-	98,7 a	95,1 a	83,9 b	6	20,74**
	R1+R2+R3	-	99,2 a	98,8 a	98,6 a	1	1,25ns
	R1+R2+R3+R4	-	99,4 a	98,5 a	98,9 a	1	1,97ns
Remoção de SSV (%)	R1	-	95,7 a	84,8 a	71,6 b	18	6,13**
	R2	-	69,6 a	59,4 a	35,4 b	49	5,05*
	R3	-	44,1 b	77,2 a	89,7 a	27	10,23**
	R4	-	0 b	0 b	6,9 a	349	4,35*
	R1+R2	-	98,8 a	95,4 a	84,2 b	6	23,24**
	R1+R2+R3	-	99,1 a	99,1 a	98,9 a	1	0,95ns
	R1+R2+R3+R4	-	99,4 a	98,5 a	98,9 a	1	1,97ns

c.v. – coeficiente de variação; Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$).

No sistema R1+R2+R3 e R1+R2+R3+R4 foram obtidas remoções de SSV de 99,1 a 98,9% e de 99,4 a 98,9%, nos ensaios de 2 a 4, e não foram observadas

diferenças significativas entre os ensaios. Isto indica que para a remoção de SSV, somente os reatores R1+R2+R3 seriam suficientes.

5.5 Produção e Composição de Biogás

Foi observado a produção de metano no R1 e R2, após a primeira semana de operação dos reatores (Figura 13).

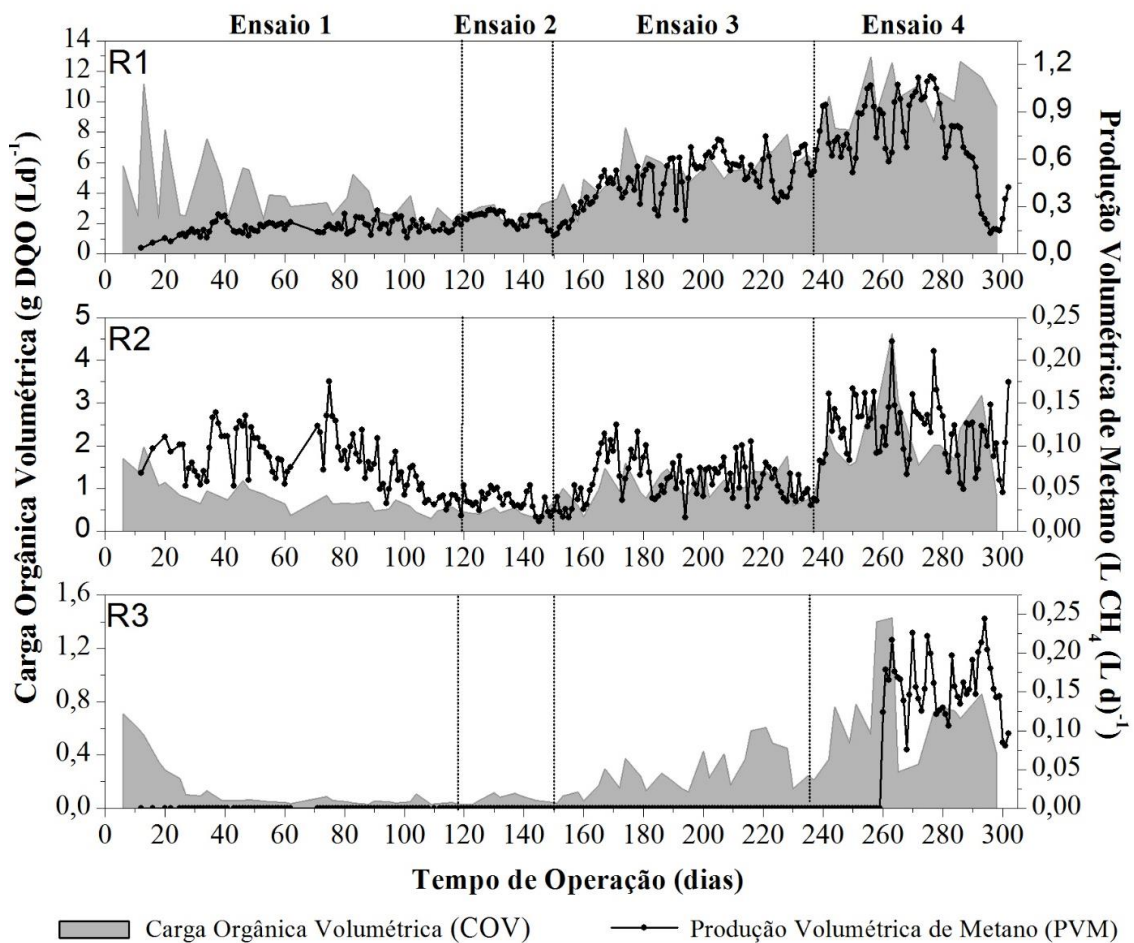


Figura 13. Produção volumétrica de metano versus a carga orgânica volumétrica (COV) no sistema de tratamento dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF) instalados em série; R1, R2 e R3, durante os ensaios de 1 a 4.

No R3 observou-se a produção de metano somente no ensaio 4, com o aumento da proporção de RV e, conseqüente, aumento da COV do R3, de 0,13 (ensaio 1) para 0,70 g DQO (L d)⁻¹ (ensaio 4) (Figura 13). Já no R4 não foi observada

a produção de biogás, que pode ter ocorrido em virtude das baixas COV aplicadas, de até 0,13 g DQO (L d)⁻¹ no ensaio 4.

O percentual de metano no R1 foi de 49,7% no ensaio 1, 48,1% no ensaio 2 e 47,9% nos ensaios 3 e 4, mesmo com o aumento da fração de RV (Tabela 13).

Tabela 13. Valores médios da produção volumétrica e específica de metano, e conteúdo de CH₄% no biogás nos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2 e R3) instalados em série durante os ensaios de 1 a 4.

Parâmetros		Ensaio				C.V. (%)	Teste F
		1	2	3	4		
CH ₄ (%)	R1	49,7 ^a	48,1 ^{ab}	47,9 ^b	47,9 ^b	8	4,4 ^{**}
	R2	73,3 ^b	75,1 ^a	69,7 ^d	71,8 ^c	4	33,7 ^{**}
	R3	0 ^b	0 ^b	0 ^b	67,5 ^a	7	92807 ^{**}
Produção Volumétrica (L CH ₄ (Ld) ⁻¹)	R1	0,168 ^c	0,229 ^c	0,460 ^b	0,724 ^a	41	156,0 ^{**}
	R2	0,081 ^b	0,036 ^d	0,059 ^c	0,118 ^a	38	70,7 ^{**}
	R3	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0,083 ^a	181	145,7 ^{**}
	R1+R2	0,144 ^c	0,127 ^c	0,243 ^b	0,406 ^a	34	153,3 ^{**}
	R1+R2+R3	0,069 ^c	0,061 ^c	0,116 ^b	0,240 ^a	32	258,2 ^{**}
Produção Específica (L CH ₄ /g DQO _{removida})	R1	0,082 ^d	0,128 ^a	0,125 ^{ab}	0,105 ^{ac}	44	15,3 ^{**}
	R2	0,214 ^a	0,172 ^{ab}	0,149 ^b	0,239 ^a	66	7,5 ^{**}
	R3	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0,318 ^a	125	306,8 ^{**}
	R1+R2	0,115 ^b	0,130 ^{ab}	0,128 ^{ab}	0,138 ^a	35	3,5 [*]
	R1+R2+R3	0,114 ^a	0,128 ^a	0,118 ^a	0,122 ^a	35	1,0 ^{ns}

c.v. – coeficiente de variação; Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); * - Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05); ns - não significativo (p>0,05).

A adição de proporções maiores de RV proporcionou aumento nos valores médios de produção volumétrica de metano (PVM) de 0,168 para 0,724 L CH₄ (L d)⁻¹ no R1, nos ensaios 1 a 4 (Figura 13 e Tabela 13), com o TDH de 1,5 dias. Ganesh et al., (2013) utilizando a co-digestão de frutas, vegetais, grama e esterco bovino com carga orgânica de 7,5 g VS (L d)⁻¹ relatou uma PVM de 0,94 L CH₄ (L d)⁻¹, com TDH

de 37 dias, com controle de temperatura a 35°C. Dareioti and Kornaros (2015) na digestão de soro de queijo, grama e esterco bovino obtiveram uma PVM de 0,90 L CH₄ (L d)⁻¹ com COV de 5,4 DQO (L d)⁻¹ utilizando um TDH de 16 dias, temperatura de 37°C e reatores com agitação contínua com alimentação em batelada. O R1 foi vantajoso comparado com os reatores em batelada citados anteriormente, pois foram obtidos valores de PVM similares, com TDH inferiores, de 24 e 10 vezes, respectivamente.

A produção volumétrica de metano média no R1 nos primeiros 37 dias do ensaio 4, foi de e 0,840 L CH₄ (L d)⁻¹, e pode se observar na figura 13 que após este período a PVM apresentou um decréscimo, que pode ter sido ocasionada pela sobrecarga de sólidos neste reator, o que pode ter ocasionado entupimento de algumas regiões do reator, diminuindo o contato do afluente com a biomassa e uma dificuldade maior no desprendimento do gás da fase líquida. Mazareli (2015), utilizando o mesmo sistema de reatores anaeróbios horizontais instalados em série, na co-digestão de RV com água residuária da suinocultura, observou o mesmo comportamento de redução na PVM após os 37 dias, de 1,08 para 0,70 L CH₄ (L d)⁻¹, no R1 no ensaio com 30% de RV no afluente, associando essa queda ao acúmulo de lodo intersticial e grande quantidade de SST no afluente, o que dificultou a hidrólise neste reator.

No R2 foram observados valores superiores de metano no biogás, de 73,3, 75,1, 69,7 e 71,8 %, mas as PVM foram inferiores as observadas no R1, de 0,081 a 0,118 L CH₄ (L d)⁻¹, nos ensaios de 1 a 4, respectivamente (Tabela 13). A redução da PVM no R2 pode ter ocorrido em virtude da maior quantidade de matéria orgânica recalcitrante provocada pela remoção das frações de fácil degradação no R1. Este efeito também relatado por Zuo et al., (2013) que no estudo da co-digestão de RV, em reatores anaeróbios em duas fases, observaram média de 15% de CH₄ no primeiro reator, com aplicação de carga orgânica superior de 2,6 g SV L d⁻¹, enquanto no segundo reator foram verificados valores superiores de metano no biogás, de 60%, indicando a predominância da acidogênese no primeiro reator e da metanogênese no segundo reator.

O aumento para 20% de RV no ensaio 4, o aumento da temperatura média do ar para valores próximos a 25 °C, e o decréscimo na remoção de DQO_{total} no R1 e

R2 (Figura 11) contribuíram para o aumento COV para $0,70 \text{ g DQO (L d)}^{-1}$, no R3 e a produção de biogás no R3. As PVM médias no R3, no ensaio 4, foram de $0,109 \text{ L CH}_4 \text{ (L d)}^{-1}$ e o biogás continha 67,5% (Tabela 13). Zuo et al., (2013) também reportaram baixa atividade metanogênica com COV menores de $1,7 \text{ g SV L}^{-1}$ na digestão anaeróbia de RV em duas fases.

Os maiores valores médios da produção específica de metano obtidos no sistema (R1+R2) foram crescentes de $0,115$ a $0,138 \text{ L CH}_4 \text{ (g DQO}_{\text{removido}})$ dos ensaios de 1 a 4. Os valores representam 33 e 40% da relação máxima teórica ($0,350 \text{ L CH}_4 \text{ (g DQO}_{\text{removido}})$), e estão dentro dos valores práticos previstos, 20 a 50% da produção teórica de CH_4 (Van Haandel e Lettinga, 1994). O maior valor observado para o sistema (R1+R2+R3) foi no ensaio 4, de $0,128 \text{ L CH}_4 \text{ (g DQO}_{\text{removido}})$. E este valor foi semelhante aos valores observados por Mazareli et al., (2016) em reatores RAHLF sequenciais, que obtiveram $0,14$ e $0,10 \text{ L CH}_4 \text{ (g DQO}_{\text{removido}})$, com uma COV de $5,2$ e $11 \text{ g DQO (L d)}^{-1}$, respectivamente, e TDH de 13 dias. Dareioti and Kornaros (2015) relaram produções específicas de metano de $0,22 \text{ L CH}_4 \text{ (g DQO}_{\text{removido}})$ com uma COV de $5,4 \text{ g DQO (L d)}^{-1}$ e TDH 16 dias, na co-digestão de sorgo ensilado, soro de queijo e estrume de vaca em reator de agitação contínua e TDH de 24 d. As baixas conversões da DQO em metano observadas neste trabalho podem ter ocorrido em virtude de eventuais obstruções no meio suporte gerando caminhos preferenciais dentro do reator, diminuindo o contato do afluente com a biomassa e dificultando o desprendimento de gás da fase líquida, ocasionando perdas de CH_4 dissolvido na fase líquida como também relatado por Oliveira e Foresti, (2004).

A configuração dos RAHLF em série foi realizada para favorecer a divisão dos estágios da digestão anaeróbia, hidrólise e metanogênese. Com a aplicação de menores TDH e maior velocidade superficial de líquido do R1, esperava-se preferencialmente a hidrólise e acidogênese no R1 e no R2 e R3 a metanogênese. Porém isso não ocorreu para a PVM (Tabela 13), indicando que poderiam ser implementadas maiores proporções de RV e conseqüentemente maiores COV aplicadas. De acordo com McMahon et al., (2001) aplicações de maiores COV poderiam resultar até no aumento da estabilidade do processo; pois eles relataram que no processo de co-digestão anaeróbia de estrume com a fração orgânica do lixo

municipal em digestores com alimentação semi-contínua, houve aumento tanto da biomassa quanto da diversidade microbiana, principalmente das arqueias metanogênicas.

O aumento na quantidade de nitrogênio e fósforo no afluente (Tabela 14) também pode explicar as maiores produções de metano no ensaio 4 (Figura 13), reforçando a importância do papel da co-digestão no aumento da variabilidade nutricional do afluente para melhoria e aumento na produção de metano pela digestão anaeróbia, como também relatado por Yao et al., (2014).

5.5.1 Balanço de massa

Na tabela 14 estão apresentadas as estimativas do percentual da DQO_{total} removida e convertida em lodo e em metano. No R1 a maior taxa de conversão em metano foi observada no ensaio 4 com aproximadamente 49% da DQO_{total} removida convertida em CH₄, e 31% convertida em lodo. No R2 as melhores conversões de 83 e 27,5% da DQO_{total} convertida em CH₄ e em lodo foram observadas nos ensaios 1 e 4, respectivamente. No R3, no ensaio 4, onde se iniciou a produção de metano, a taxa de conversão de DQO_{total} em CH₄ foi de 82,6% (Tabela 14). Observa-se que houve perdas de DQO_{total}, que podem estar relacionadas a DQO que foi imobilizada internamente e nos interstícios do meio suporte dos reatores e também em virtude do metano dissolvido que pode ter sido arrastado com o efluente.

Tabela 14. Balanço de Massa: Estimativas do percentual de DQO_{total} removido convertido em lodo e metano

Parâmetros		Ensaio			
		1	2	3	4
DQO _{total} removida convertida em lodo (%)	R1	-	30,9	23,5	31,0
	R2	-	5,7	12,8	27,5
	R3	-	-	-	1,5
DQO _{total} removida convertida em CH ₄ (%)	R1	22,4	42,9	45,0	49,0
	R2	83,1	70,5	49,9	49,7
	R3	-	-	-	82,6

Na digestão de vinhaça bruta em reatores UASB termofílicos operados com COV de $15 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, Júnior et al., (2016) obteve uma conversão inferior de metano, de 31,5%, e de 36% incorporado na biomassa, e muito provavelmente em virtude da elevada COV e diferentes características do resíduo utilizado. Koch et al., (2016) no monitoramento de uma planta de tratamento de resíduos orgânicos do lixo municipal, observou que o balanço de massa da co-digestão anaeróbia apresentou crescimento de 18% na conversão da DQO a metano, em relação ao resíduo digerido sem co-substrato, o que pode explicar as conversões de metano observadas neste estudo.

5.6 Lodo

A quantificação de biomassa foi realizada por meio do perfil de sólidos totais (ST) e voláteis (SV) no lodo dos reatores. No R1 os valores de SV aumentaram do ensaio 1 para o 4 (Figura 14) com o aumento da proporção de RV no afluente, principalmente, no ponto de coleta de lodo (P1), que fica próxima a entrada do afluente. No R2 foi observado comportamento semelhante ao R1 (Figura 14). No R3 as concentrações de SV se mantiveram abaixo de 2 g L^{-1} nos pontos de 1 a 6, nos ensaios 1 ao 3, em virtude das baixas COV aplicadas nestes ensaios, de 0,13, 0,07 e $0,26 \text{ g DQO (L d)}^{-1}$, respectivamente. As COV aplicadas no R4 foram ainda menores e explica a menor quantidade de lodo neste reator.

No ensaio 4 com o aumento da COV para $0,70 \text{ g DQO (L d)}^{-1}$ no R3, foram observadas as maiores concentrações de SV no lodo do R3, nos pontos 1, 2 e 3 com 57,8, 17,9 e 13 g L^{-1} , respectivamente (Figura 14), o que pode ter proporcionado o início da PVM (Tabela 13). No R3 o lodo concentrou-se na região de entrada do afluente.

De acordo com a legislação brasileira a resolução N° 375 (CONAMA, 2006), o lodo de esgoto ou derivados são considerados estáveis para uso agrícola quando a relação SV/ST for inferior a 0,70. No R1, os valores de ST/SV foram superiores a 0,8 em todos os pontos de coleta, nos quatro ensaios, indicando a predominância de matéria orgânica no lodo, e a presença de micro-organismos, considerando-se a PVM (Tabela 13) (Oliveria e Foresti, 2004).

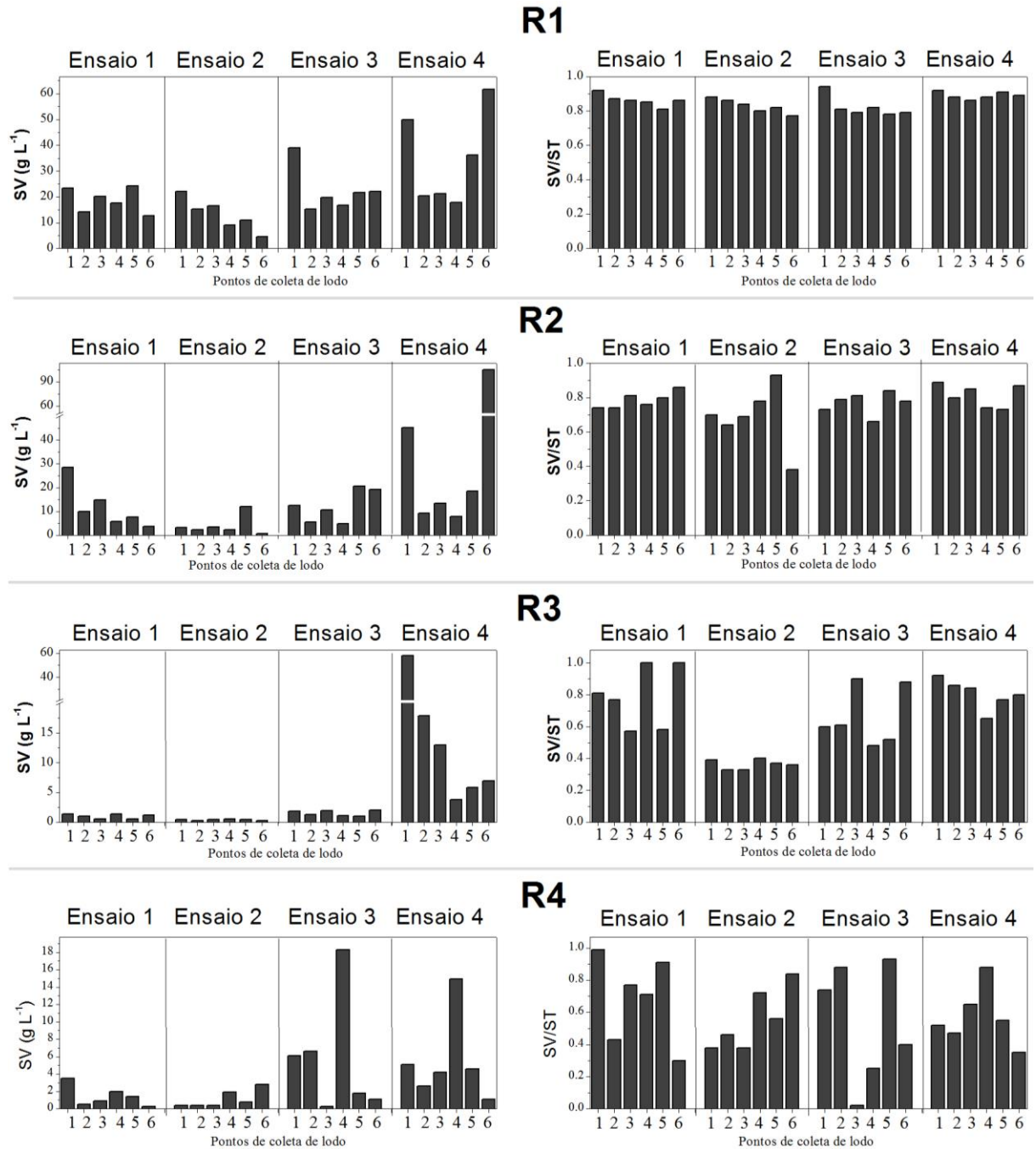


Figura 14. Valores de sólidos voláteis (SV) e relação sólidos voláteis / sólidos totais (SV/ST) nos pontos de coleta (P1 a P6) nos reatores RAHLF (R1, R2, R3 e R4), instalados em série durante os ensaios 1 a 4.

Os pontos P1, P2, P3 e P6 do R2, no ensaio 2, e no R3, os pontos P3 e P5, no ensaio 1, os pontos de P1 a P6 no ensaio 2, os pontos P1, P2, P4 e P5 no ensaio 3, o ponto P4 no ensaio 4 e a maior parte dos pontos do R4 mantiveram a relação SV/ST abaixo de 0,70, e poderiam ser descartados atendendo a legislação, quanto a relação SV/ST.

5.7 Teor de macronutrientes e micronutrientes nos afluentes e efluentes

5.7.1 Nitrogênio e Fósforo

Com o aumento do percentual de RV no afluente também ocorreu aumento gradativo de nitrogênio e fósforo. Os valores médios de nitrogênio total kjeldahl (NTK) no afluente foram de 114 a 538 mg L⁻¹ e as médias de remoção foram de 16% a 53% no sistema (R1+R2+R3+R4) nos ensaios de 1 a 4 (Tabela 15).

Os maiores valores de nitrogênio amoniacal (N-am) foram observados a partir da recirculação de efluente no ensaio 2 (Tabela 15), e o maior ($p < 0,01$) valor no R2, no ensaio 4, de 328 mg L⁻¹. No R3, nos ensaios 3 e 4, foram observados os maiores valores de N-am, de 210 e 344 mg L⁻¹ respectivamente. As concentrações de N-am estão abaixo do nível de toxicidade, de 4000 a 6000 mg L⁻¹, indicado no trabalho de Nielsen e Angelidaki (2008).

Os valores médios de fósforo total aumentaram de 36 para 67 mg L⁻¹ no afluente nos ensaios de 1 ao 4, e a maior eficiência de remoção de P_{total} no sistema foi de 54% (ensaio 4). Na digestão anaeróbia de água residuária de suinocultura em reatores UASB de duas fases, Ramires e Oliveira (2014) obtiveram valores médios para nitrogênio e fósforo no efluente de 477,5 e 161,8 mg L⁻¹ respectivamente, atingindo médias de remoção de 46% para nitrogênio e 44% para fósforo total, com TDH de 1,8 d e COV de 5,5 g DQO (L d)⁻¹, e com o aumento da COV para 34,4 g DQO (L d)⁻¹ foram atingidas maiores remoções de NTK e P_{total} de 69 e 75%, respectivamente. Este comportamento também foi observado neste trabalho, em que as maiores proporções de RV, foi benefício para balanço nutricional dos reatores.

As concentrações de NTK e P_{total} decresceram do afluente aos efluentes dos reatores mesmo com aumento do RV e COV. Os substratos ricos em carboidratos, como os RV, favoreceram a multiplicação de bactérias fermentativas que utilizam o nitrogênio e fósforo em sua síntese metabólica, o que justifica a gradativa melhoria nas remoções destes nutrientes. Mazareli (2015) também comprovou a eficiência dos RAHLF instalados em série para a remoção de NTK.

Tabela 15. Valores médios e coeficiente de variação de nitrogênio amoniacal (N-am), nitrogênio total Kjeldahl (NTK) e fósforo total no efluente dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo e alta taxa (R1, R2, R3 e R4) instalados em série durante os ensaios de 1 a 4.

Parâmetros		Ensaio				c.v. (%)	Teste F
		1	2	3	4		
N-am (mg L ⁻¹)	Afluente	52 ^c	67 ^c	133 ^b	163 ^a	29	51,4**
	R1	89 ^c	117 ^c	182 ^b	272 ^a	23	74,1**
	R2	132 ^c	119 ^c	213 ^b	328 ^a	28	41,6**
	R3	175 ^{bc}	113 ^c	210 ^b	344 ^a	36	19,6**
	R4	264 ^a	112 ^b	182 ^b	320 ^a	51	7,6**
NTK (mg L ⁻¹)	Afluente	163 ^b	152 ^b	378 ^{ab}	538 ^a	49	12,1**
	R1	114 ^c	127 ^{bc}	242 ^b	355 ^a	37	18,1**
	R2	154 ^b	129 ^b	221 ^b	356 ^a	43	9,2**
	R3	183 ^{ab}	116 ^b	217 ^{ab}	357 ^a	46	3,2*
	R4	271 ^a	119 ^a	196 ^a	328 ^a	50	2,4 ^{ns}
Remoção (%)	R1+R2+R3+R4	-	16 ^b	47 ^a	53 ^a	41	5,7*
Fósforo (mg L ⁻¹)	Afluente	36 ^b	38 ^b	69 ^a	67 ^a	27	15,2**
	R1	61 ^a	33 ^b	48 ^{ab}	46 ^{ab}	30	4,4**
	R2	60 ^a	32 ^c	48 ^b	41 ^{bc}	20	11,5**
	R3	66 ^a	36 ^{bc}	44 ^b	30 ^c	24	19,3**
	R4	66 ^a	40 ^b	41 ^b	31 ^b	23	21,1**
Remoção (%)	R1+R2+R3+R4	-	-	40 ^b	54 ^a	38	5,1*

c.v. – coeficiente de variação; Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$); * - Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns - não significativo ($p > 0,05$).

Para suprir algumas das condições nutricionais necessárias dos micro-organismos na digestão anaeróbia, Chernicharo (2007) indica 350:5:1 como relação DQO:N:P ideal. A relação DQO:N:P variou de 350:8:2 até 350:347:108 nos afluentes do R1, R2, R3 e R4, nos ensaios de 1 ao 4 (Tabela 16). Portanto a relação DQO:N:P foi atendida em todos os ensaios e não houve necessidade de suplementação

destes compostos. Para atingir relações de DQO:N:P na faixa de 350:4,8:0,8 a 350:7,4:1,7 na digestão de vinhaça, Barros et al., (2016) suplementaram o afluente com fosfato de potássio monobásico e ureia. Portanto, a co-digestão do RV e do ES não possui limitações quanto a presença de nitrogênio e fósforo, o que pode ter contribuído para as PVM estáveis, principalmente no R1 e R2.

Tabela 16. Valores da relação DQO:N:P nos efluentes dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (R1, R2, R3 e R4) instalados em série nos ensaios de 1 a 4

Parâmetro	Ensaio	1	2	3	4
	(%RV:%ES:%ER)	5:95:0	5:47,5:47,5	10:45:45	20:40:40
DQO:N:P	Afluente	350:8:2	350:13:3	350:16:3	350:12:2
	R1	350:23:12	350:48:12	350:37:7	350:24:3
	R2	350:127:50	350:191:47	350:94:20	350:56:6
	R3	350:194:70	350:347:108	350:209:42	350:242:20
	R4	350:259:63	350:249:84	350:271:57	350:267:25

DQOtotal = demanda química de oxigênio total; N = nitrogênio total kjedahl, P = fósforo total

5.7.2 Ferro, Zinco, Cobre e Manganês

As concentrações médias de Fe, Zn, Cu e Mn no afluente variaram de 1,91 a 4,14 mg L⁻¹; de 5,04 a 10,92 mg L⁻¹, 0,02 a 0,20 mg L⁻¹ e de 0,25 a 0,63 mg L⁻¹, respectivamente (Tabela 17). Mesmo com a adição de maiores concentrações de RV na constituição do afluente que resultou em maiores COV, o efluente final do sistema de reatores em série manteve a remoção destes elementos e não apresentou diferenças estatísticas entre os ensaios, com o efluente do R4 variando de 0,61 a 2,32 mg L⁻¹ para Fe, de 3,67 a 6,52 mg L⁻¹ para Zn, de 0,00 a 0,01 mg L⁻¹ para Cu e de 0,12 a 0,19 mg L⁻¹ para Mn, mostrando estabilidade nos RAHLF. O Cu mesmo com a introdução de maiores quantidades de RV, sua concentração diminuiu do ensaio 1 ao 4 (Tabela 17), o que mostra que a maior fonte de fornecimento de Cu foi o esgoto sanitário.

Tabela 17. Valores médios e coeficiente de variação (c.v. %) das concentrações e remoções no sistema (R1, R2, R3 e R4) de ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu) e manganês (Mn) durante a operação dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo nos ensaios de 1 ao 4.

Elementos (mg L ⁻¹)	Ensaio				c.v. (%)	Teste F	
	1	2	3	4			
Fe	Afluente	3,23 a	1,91 a	2,14 a	4,14 a	58	2,92 ^{ns}
	R1	2,64 a	0,71 a	1,05 a	2,69 a	71	4,97 ^{**}
	R2	0,89 a	0,26 a	1,20 a	3,05 a	131	3,14 [*]
	R3	1,12 a	0,74 ab	0,15 b	1,26 a	99	4,74 ^{**}
	R4	1,32 a	0,92 a	0,61 a	2,32 a	168	1,14 ^{ns}
	Remoção (%) R1+R2+R3+R4	64 a	51 a	74 a	71 a	52	0,48 ^{ns}
Zn	Afluente	5,04 a	8,36 a	7,14 a	10,92 a	73	2,03 ^{ns}
	R1	4,63 a	10,48 a	9,07 a	5,62 a	90	1,61 ^{ns}
	R2	5,14 a	11,22 a	6,85 a	6,78 a	92	0,10 ^{ns}
	R3	6,72 a	10,40 a	6,74 a	8,23 a	96	0,35 ^{ns}
	R4	3,96 a	3,67 a	5,98 a	6,52 a	106	0,57 ^{ns}
	Remoção (%) R1+R2+R3+R4	60 a	46 a	40 a	40 a	48	0,88 ^{ns}
Cu	Afluente	0,20 a	0,02 ab	0,02 b	0,06 ab	195	2,94 [*]
	R1	0,04 a	0,00 a	0,08 a	0,11 a	192	1,12 ^{ns}
	R2	0,01 b	0,00 b	0,00 b	0,53 a	206	10,54 ^{**}
	R3	0,01 a	0,00 a	0,00 a	0,03 a	278	1,87 ^{ns}
	R4	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,01 a	387	2,55 ^{ns}
	Remoção (%) R1+R2+R3+R4	98 a	100 a	100 a	90 a	14	0,76 ^{ns}
Mn	Afluente	0,25 b	0,25 b	0,42 b	0,63 a	34	14,95 ^{**}
	R1	0,58 a	0,29 b	0,29 b	0,44 ab	38	8,07 ^{**}
	R2	0,16 b	0,20 ab	0,27 ab	0,40 a	51	5,71 ^{**}
	R3	0,16 a	0,13 a	0,15 a	0,22 a	75	0,76 ^{ns}
	R4	0,12 a	0,19 a	0,18 a	0,12 a	45	2,83 ^{ns}
	Remoção (%) R1+R2+R3+R4	55 ab	24 b	56 ab	79 a	39	5,86 ^{**}

c.v. – coeficiente de variação; Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); * - Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05); ns - não significativo (p>0,05).

As médias de remoção de Fe foram de 51 a 71%, de 60 a 40% para Zn, de 98 a 90% para Cu e de 55 a 79% para Mn (Tabela 17), as remoções destes elementos não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si em nenhuma das fases, indicando que o aumento da COV não influenciou negativamente na remoção destes elementos, e as concentrações médias no efluente se mantiveram abaixo das do afluente. Utilizando um sistema de tratamento em duas fases em reatores UASB (R1+R2) no tratamento de água residuária de suinocultura, Ramires et al., (2014) observaram resultados semelhantes para estes elementos com afluente com médias de 2,24 a 3,99 mg L⁻¹ para Fe e de 0,34 a 0,61 mg L⁻¹ para Mn e maiores concentrações para Cu com médias de 0,64 a 0,74 mg L⁻¹ e menores médias para Zn de 0,59 a 1,98 mg L⁻¹. Onde os autores conseguiram obter remoções de até 94% para Fe, 77% para Zn, 89% para Cu e de 59% para Mn.

5.7.3 Cálcio, Magnésio, Potássio e Sódio

As concentrações médias de Ca, Mg, K e Na no afluente variaram de 0,55 a 2,34 mg L⁻¹, de 0,24 a 1,14 mg L⁻¹, de 2,73 a 9,98 mg L⁻¹, de 2,90 a 10,44 mg L⁻¹, respectivamente (Tabela 18). O aumento de RV na constituição do afluente ocasionou o aumento destes elementos, principalmente K e Na que elementos presentes na constituição da banana e tomate que formavam o resíduo vegetal (MENEZES, 2012). Porém mesmo com o aumento da concentração de Ca, Mg, K e Na nas fases de 1 a 4, em todos os ensaios a quantidade destes elementos no efluente do R4 foi menor que no afluente do sistema, mostrando que a biomassa microbiana dos RAHLF mesmo com maiores COV, foi eficiente para diminuição destes micronutrientes.

As médias de remoção foram de 21 a 41% para Ca e de 7 a 9% para Na nos ensaios de 1 a 4, não apresentando diferenças estatísticas entre os ensaios. Já para Mg e K o aumento da proporção de RV no afluente contribuiu positivamente na remoção destes elementos, sendo a maior remoção de Mg no ensaio 4 com 26% e a maior remoção de K ocorreu nos ensaios 2 e 4 com 33 e 27% de remoção (Tabela 18). O aumento na remoção de Mg pode ser atribuído a imobilização deste na biomassa microbiana, uma vez que algumas arqueias como a *Methanosarcina thermophila* apresentam seu ótimo em concentrações de Mg superiores a 720 mg L⁻¹

como relatado por Chen et al., (2008), o aumento da biomassa microbiana no ensaio 4 (Figura 14) pode corroborar estes requisitos nutricionais.

Tabela 18. Valores médios e coeficiente de variação (c.v. %) das concentrações e remoções no sistema (R1, R2, R3 e R4) de cálcio (Ca), magnésio (Mg), Potássio (K) e sódio (Na) durante a operação dos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo nos ensaios de 1 ao 4.

Elementos (mg L ⁻¹)	Ensaio				c.v. (%)	Teste F					
	1	2	3	4							
Ca	Afluente	0,55	b	0,74	ab	1,86	a	2,34	a	78	5,88**
	R1	1,19	b	0,65	b	0,89	b	2,25	a	63	5,98**
	R2	0,78	a	0,80	a	1,01	a	1,50	a	61	2,41 ^{ns}
	R3	0,59	a	0,44	a	1,02	a	1,32	a	92	1,90 ^{ns}
	R4	0,49	a	0,67	a	1,30	a	1,44	a	96	2,48 ^{ns}
	Remoção (%) R1+R2+R3+R4	21	a	16	a	32	a	41	a	97	1,16 ^{ns}
Mg	Afluente	0,24	b	0,84	a	1,10	a	1,14	a	34	27,08**
	R1	0,67	b	0,95	b	0,95	b	1,46	a	28	13,94**
	R2	0,89	b	0,92	b	0,88	b	1,61	a	35	8,34**
	R3	0,87	b	0,90	b	0,84	b	1,54	a	34	8,46**
	R4	0,86	a	1,14	a	0,93	a	0,97	a	35	0,78 ^{ns}
	Remoção (%) R1+R2+R3+R4	1	b	0	b	16	ab	26	a	106	9,38**
K	Afluente	2,73	b	4,20	b	7,92	a	9,98	a	20	63,26**
	R1	2,84	b	4,02	b	7,82	a	8,79	a	17	82,62**
	R2	3,37	c	4,58	bc	3,73	ab	8,56	a	32	15,41**
	R3	3,64	b	3,74	b	6,73	a	7,53	a	32	11,45**
	R4	5,22	a	2,80	a	6,25	a	6,62	a	43	2,71 ^{ns}
	Remoção (%) R1+R2+R3+R4	2	b	33	a	22	ab	27	a	108	4,62
Na	Afluente	2,90	c	3,51	bc	9,53	ab	10,44	a	58	9,59**
	R1	3,06	c	3,20	bc	8,30	ab	9,22	a	57	7,90**
	R2	2,94	c	3,45	bc	8,01	ab	9,92	a	59	8,10**
	R3	2,83	c	3,55	bc	8,31	ab	9,49	a	54	9,47**
	R4	3,15	c	3,37	bc	8,69	ab	9,74	a	57	8,20**
	Remoção (%) R1+R2+R3+R4	7	a	6	a	11	a	9	a	155	0,25 ^{ns}

c.v. – coeficiente de variação; Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey a 5%. ** - Significativo a 1% de probabilidade (p<0,01); * - Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05); ns - não significativo (p>0,05).

Mazareli, (2015) na co-digestão de água residuária de suinocultura com RV utilizando o mesmo sistema de reatores RAHLF em série, também obteve remoções de K e Na não muito satisfatórios, com o aumento de RV no afluente de 0 a 30% (durantes os ensaios de 1 a 4) as remoções de K foram de 52 para 23%, e a remoção de Na foi de 18 para 10%, baixa remoção que pode ser atribuída a alta solubilidade destes micronutrientes no efluente.

5.8 Coliformes totais e termotolerantes

Para avaliação da qualidade do efluente tratado no sistema constituído pelos RAHLF, instalados em série (R1+R2+R3+R4) foi verificada a remoção de coliformes totais e termotolerantes, no sistema e individualmente e em cada reator (Tabela 19).

No sistema foram obtidas eficiências de remoção de 99,97, 99,77, 99,76 e 92,67% de coliformes totais e de 99,99, 99,98, 99,96 e 35,71% de remoção de coliformes termotolerantes, nos ensaios 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Sylvestre et al. (2014) no estudo de um sistema constituído por dois reatores UASB em série, obtiveram remoções de 99,50% de coliformes totais e 99,91% de coliformes termotolerantes, com TDH de 30 h, no tratamento de águas residuária de suinocultura, em um sistema sem recirculação de efluente.

A recirculação do efluente utilizada neste trabalho pode explicar o declínio da eficiência na remoção de coliformes nos reatores RAHLF a partir do ensaio 2, porém, no ensaio 4 ainda foi observada remoção de uma unidade logarítmica de coliformes totais mesmo com a recirculação.

O ensaio 1, onde o afluente foi constituído por 95% de ES e 5% de RV sem a recirculação de efluente foram obtidos as maiores reduções nas contagens de coliformes totais de $1,5 \times 10^8$ NMP (100 ml)⁻¹ no afluente para $4,3 \times 10^4$ NMP (100 ml)⁻¹ no efluente do R4, ou seja uma redução de 4 unidades logarítmicas. Na monodigestão anaeróbia de água residuária de suinocultura Mazareli et al., (2016) utilizando o mesmo sistema de RAHLF em série obtiveram resultados inferiores com redução de uma unidade logarítmica do R2 para o R3, mas conseguiu obter a

remoção de até duas unidades logarítmicas (de $1,1 \times 10^6$ para $1,8 \times 10^4$ NMP (100 ml)⁻¹) na co-digestão com 30% de RV.

Tabela 19. Valores médios de coliformes totais e coliformes termotolerantes no afluente e efluentes, eficiência na remoção no sistema composto pelos reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (R1, R2, R3 e R4), instalados em série, durante os ensaios 1 a 4.

Ensaio (RV:ES:ER)		Coliformes			
		Totais		Termotolerantes	
		NMP (100 ml) ⁻¹	Remoção (%)	NMP (100 ml) ⁻¹	Remoção (%)
1 (5:95:0)	Afluente	$1,5 \times 10^8$	-	$4,3 \times 10^7$	-
	R1	$2,4 \times 10^7$	84,00	$9,3 \times 10^6$	78,37
	R2	$1,5 \times 10^6$	93,75	$2,0 \times 10^5$	97,85
	R3	$4,3 \times 10^4$	97,13	$2,3 \times 10^4$	88,50
	R4	$4,3 \times 10^4$	00,00	$9,0 \times 10^2$	96,09
	R1+R2+R3+R4	-	99,97	-	99,99
2 (5:47,5:47,5)	Afluente	$9,3 \times 10^7$	-	$2,1 \times 10^7$	-
	R1	$4,3 \times 10^6$	95,38	$4,3 \times 10^6$	79,52
	R2	$9,3 \times 10^5$	78,37	$9,3 \times 10^5$	78,37
	R3	$2,1 \times 10^5$	77,42	$4,3 \times 10^4$	95,38
	R4	$2,1 \times 10^5$	00,00	$4,6 \times 10^3$	89,30
	R1+R2+R3+R4	-	99,77	-	99,98
3 (10:45:45)	Afluente	$4,6 \times 10^7$	-	$9,3 \times 10^6$	-
	R1	$4,3 \times 10^6$	90,65	$4,3 \times 10^6$	53,76
	R2	$2,4 \times 10^6$	44,19	$9,3 \times 10^5$	78,37
	R3	$4,6 \times 10^5$	80,83	$9,3 \times 10^4$	97,84
	R4	$1,1 \times 10^5$	76,09	4×10^3	99,57
	R1+R2+R3+R4	-	99,76	-	99,96
4 (20:40:40)	Afluente	$1,5 \times 10^7$	-	7×10^5	-
	R1	$1,1 \times 10^8$	-633,33	$1,5 \times 10^7$	-2042,9
	R2	$4,6 \times 10^6$	95,82	$1,5 \times 10^6$	90,00
	R3	$1,1 \times 10^6$	76,09	$1,1 \times 10^6$	92,67
	R4	$1,1 \times 10^6$	00,00	$4,5 \times 10^5$	70,00
	R1+R2+R3+R4	-	92,67	-	35,71

Comprovando, portanto o auxílio dos RV na melhoria da remoção de coliformes totais. Duda (2010) relatou remoções de 99,99% para coliformes totais e termotolerantes com redução de até quatro unidades logarítmicas no sistema de tratamento composto por reator UASB (R1), filtro anaeróbio de fluxo ascendente (R2), mas com a adição de um filtro biológico percolador (FBP) e decantador no tratamento de águas residuárias de suinocultura, com TDH de 31,3 dias.

A contagem de coliformes totais no R3 e R4 foi idêntica nos ensaios 1, 2 e 4 com $4,3 \times 10^4$, $2,1 \times 10^5$, $1,1 \times 10^6$ NMP (100 ml)⁻¹ respectivamente (Tabela 19). Mazareli (2015) no tratamento de resíduos da suinocultura em RAHLF em série com uma COV de 5,5 (g DQO_{total} (L d)⁻¹) obteve resultado semelhante não havendo remoção de coliformes totais do R3 para o R4, com valores de $1,7 \times 10^7$ NMP (100 ml)⁻¹ em ambos os reatores.

Em uma estação experimental de tratamento de esgoto sanitário em um reator UASB em escala real, pré-fabricado em aço (volume = 48 m³, altura = 5,70 m e TDH = 7 h), Calijuri et al. (2009) obtiveram valores inferiores na remoção de coliformes totais e termotolerantes, de 87% (0,89 log₁₀) e 67% (0,48 log₁₀), respectivamente. O esgoto sanitário tratado naquele trabalho apresentou resultados de coliformes totais de 10⁷ a 10⁸ NMP (100 ml)⁻¹, e é a mesma faixa encontrada no presente trabalho. Portanto, a mistura de resíduos vegetais no esgoto não causa grandes alterações na contagem de coliformes totais no afluente.

Nos ensaios 2 e 3, as maiores remoções de coliformes totais foram de 95,38 e 90,65% para o R1 (Tabela 19). De acordo com Salsali et al. (2006) o pH ácido e as altas concentrações de AVT podem contribuir para inibição do crescimento e inativação de coliformes. Os valores médios de pH do afluente de 5,5 e concentrações de AVT de 818 e 1618 mg L⁻¹, nos ensaios 2 e 3 podem ter contribuído diretamente para maior remoção de coliformes pelo R1. Porém pode-se observar um declínio na remoção de coliformes com a introdução de efluente recirculado a partir do ensaio 2. Com a recirculação de efluente, pode ter ocorrido a reintrodução dos coliformes que não haviam sido eliminados pelo sistema, e estes se adaptaram as condições ambientais dos reatores. Um fato que pode evidenciar isto é a similaridade nos resultados de coliformes totais e termotolerantes, ambos $1,1 \times 10^6$ NMP (100 ml)⁻¹ no R3, mostrando o domínio dos coliformes termotolerantes,

o que pode justificar a baixa remoção de coliformes termotolerantes no ensaio 4 (Tabela 19).

Os limites de coliformes termotolerantes para o uso de águas doces na irrigação estabelecido na Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 357, de 17 de março de 2005 são de 200, 1000 e 4000 NMP (100 ml)⁻¹ em corpos d'água de classe 1, 2 e 3. Portando o efluente do R4 (sistema R1+R2+R3+R4) atingiu nos ensaios 1, 2 e 3 os padrões de lançamento em corpos d'água de classe 3, referente a coliformes termotolerantes, podendo ser utilizado para irrigação de arbóreas, cerealíferas e forrageiras, por exemplo.

5.9 Quantificação absoluta da microbiota

Observou-se um equilíbrio entre os domínios Bacteria e Archaea (Figura 15). As quantidades de micro-organismos nos domínios Bacteria e Archaea encontrados no lodo R1 foram semelhantes, com $2,35 \times 10^{10}$ e $1,51 \times 10^{10}$ cópias/gSV, respectivamente. O equilíbrio entre esses dois domínios está diretamente relacionado à estabilidade do sistema e ao melhor uso na degradação do substrato para a produção de metano (AKUZAWA et al., 2011). Os micro-organismos metanogênicos pertencentes ao domínio Archaea são mais sensíveis às mudanças nas condições operacionais, podem ser facilmente inibidos por decréscimos no pH, o que pode ocorrer com a alta produção de AVT por micro-organismos do domínio Bacteria, responsável pela fermentação na digestão anaeróbia (ZHANG et al., 2015). Duda et al., (2015) também observaram um equilíbrio entre esses domínios, com $1,9 \times 10^9$ cópias/g para Bactérias e $1,3 \times 10^8$ cópias/g para Achaeas, também utilizando RAHLF em tratamento de águas residuárias de suinocultura. Este equilíbrio entre os domínios comprova que o pH estava na faixa ideal para se desenvolverem.

Methanosarcinales e Methanobacteriales apresentaram contagens mais altas ($5,26 \times 10^9$ e $1,91 \times 10^9$ cópias/gSV, respectivamente) do que Methanomicrobiales ($1,36 \times 10^7$ cópias/gSV) (Figura 15). O maior número de indivíduos na ordem Methanosarcinales é justificado porque eles são capazes de atuar na via metabólica hidrogenotrófica (usando H₂ para reduzir o CO₂ à CH₄) e na via acetotrófica (utilizando acetato, formiato e álcoois secundários na redução de CO₂) (BONIN;

BOONE, 2006; KENDALL; BOONE, 2006). A quantidade elevada que destes microorganismos metanogênicos são importantes para promover o equilíbrio nas reações de fermentação, otimizando a degradação do substrato, como ocorreu em R1.

Jang et al., (2015) na co-digestão de lodo de esgoto com resíduos de alimentos em reator de tanque com agitação contínua (CSTR), observaram que a ordem de Methanobacteriales aumentou de 67,4 para 75,9% com o aumento na proporção de resíduos alimentares na co-digestão, enquanto a ordem Methanosarcinales permaneceu em 24%, e a ordem Methanomicrobiales apresentou uma diminuição de 2,08 para 0,11%. Assim como o resíduos de alimentos, os RV são facilmente convertidos em AVT, o que pode explicar o menor número de microorganismos da ordem Methanomicrobiales, porque esta ordem não é capaz de usar acetato e compostos metilados como metanol e metilaminas como substrato para metanogênese (GARCIA; OLLIVIER; WHITMAN, 2006). No entanto, no nosso trabalho, Methanobacteriales também prevaleceu no sistema quando comparado com Methanomicrobiales, ambos metanogênicos hidrogenotróficos.

Nas famílias arquiteônicas, Methanosarcinaceae apresentou $2,31 \times 10^8$ cópias/gSV, enquanto Methanosaetaceae, teve uma contagem de $1,61 \times 10^{10}$ cópias/gSV no lodo do R1 (Figura 15). Duda et al. (2015) observaram no tratamento de águas residuária de suinocultura em RAHLF, que ambas as famílias (Methanosarcinaceae e Methanosaetaceae) mantêm o equilíbrio, mostrando que o substrato pode contribuir diretamente para a diversidade microbiana no lodo do reator. Yuan et al., (2016) observaram em áreas pantanosas na costa da China o aumento da comunidade metanogênica, onde, de acordo com o aumento da quantidade de carbono orgânico dissolvido, a população de Methanosarcinaceae aumentou em relação às Methanosaetaceae, devido à sua alta afinidade com o acetato.

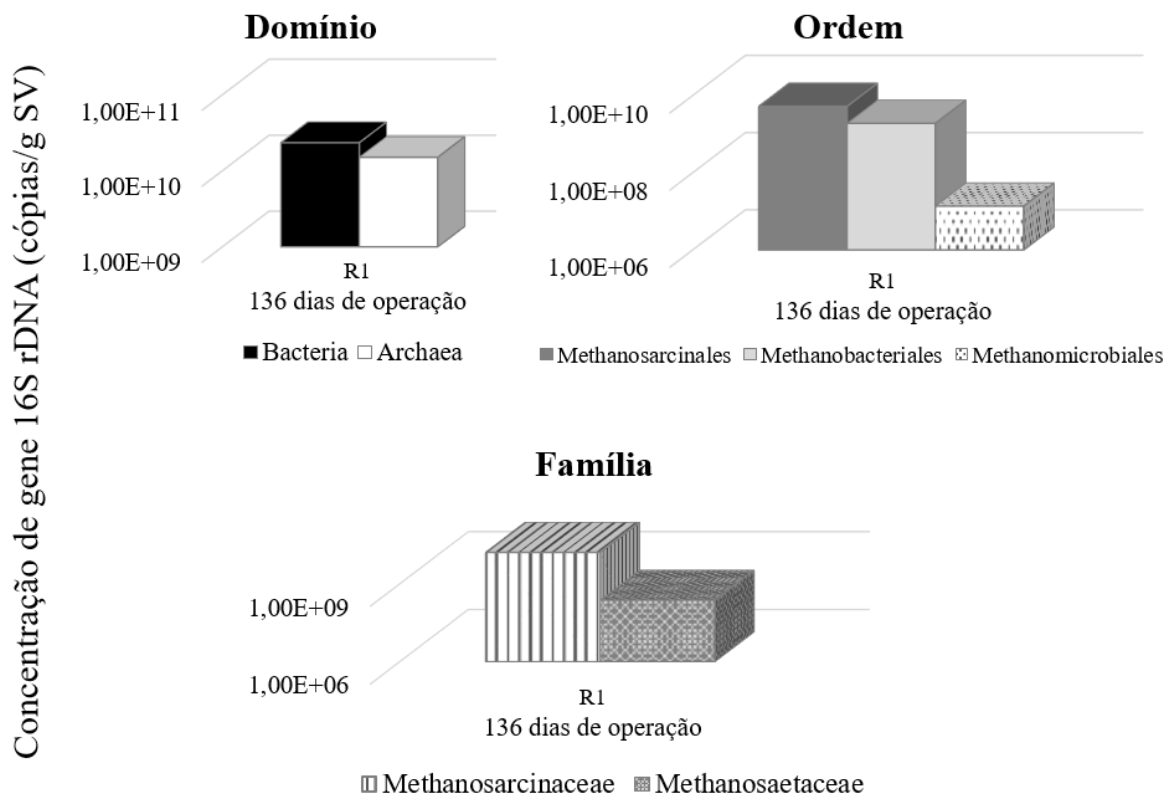


Figura 15. Quantificação absoluta dos micro-organismos com qPCR dos domínios Bacteria e Archaea, três ordens (Methanobacteriales, Methanomicrobiales e Methanosarcinales) e duas famílias (Methanosarcinaceae e Methanosaetaceae) do domínio Achaea, presentes no lodo do R1.

Outro fator que pode afetar micro-organismos metanogênicos que atuam na via metabólica acetoclastica são altos níveis de AVT, o que pode inibi-los mais facilmente do que os metanogênicos que atuam na via metabólica hidrogenotrófica (KARAKASHEV et al., 2006). Zhao et al., (2017) também observaram a maior abundância de Methanosarcinaceae na fase acidogênica na digestão anaeróbia em dois estágios de palha de milho usando um reator vertical. A maior quantidade de AVT no R1 pode ter contribuído para uma maior presença da família Methanosarcinaceae.

6. CONCLUSÃO

A co-digestão de RV com ES pode ser uma solução adequada para a obtenção de metano e a introdução de maiores frações de RV resultaram em maiores remoções de DQO e SV, de até 97 e 88%, respectivamente.

A recirculação de efluente aumentou a alcalinidade, proporcionando tamponamento dos reatores, e evitando o acúmulo de AVT e consequente inibição da metanogênese, mas contribuiu negativamente para a remoção de coliformes totais e termotolerantes.

A produção volumétrica de metano no R1 foi de até $0,840 \text{ L CH}_4 (\text{L d})^{-1}$ com as maiores proporções de resíduos vegetais no afluente, de 20%. Também foi observado que para proporções de RV de até 10%, somente o R1 e R2 seriam suficientes para a produção de biogás. Mas analisando-se a qualidade do efluente, quanto a DQO, o R2 e R3 são importantes, principalmente com as maiores frações de RV.

O equilíbrio entre os domínios bactéria e arqueia indica o bom funcionamento do R1. O aumento da concentração de Methanosarcinaceae indicou que a via metabólica acetoclástica foi ativa na produção de metano nos RAHLF.

7. REFERÊNCIAS

- ABETRE. Classificação De Resíduos Sólidos. p. 1–14, 2006.
- ABILA, N. Managing municipal wastes for energy generation in Nigeria. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 37, p. 182–190, set. 2014.
- ABREU, S. B., ZAIAT, M. Desempenho de reator anaeróbio-aeróbio de leito fixo no tratamento de esgoto sanitário. **Eng. Sanit. Ambient.**, v. 13, n. 2, 2008.
- AKUZAWA, M. et al. Distinctive Responses of Metabolically Active Microbiota to Acidification in a Thermophilic Anaerobic Digester. **Microbial Ecology**, v. 61, n. 3, p. 595–605, 2011.
- AL MAMUN, M. R.; TORII, S. Anaerobic co-digestion of cafeteria, vegetable and fruit wastes for biogas production. **3rd International Conference on Renewable Energy Research and Applications, ICRERA 2014**, v. 3, n. 4, p. 369–374, 2015.
- ALMEIDA, E. I. B. et al. Levantamento de perdas em hortaliças frescas na rede varejista de areia (PB). **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 2, n. 1, p. 53–60, 2012.
- ALTSCHUL, S. F. et al. **Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs** *Nucleic Acids Research*, 1997.
- APHA; AWWA; WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21. ed. Washington DC, USA.: American Public Health Association, 2005.
- APPELS, L. et al. Peracetic acid oxidation as an alternative pre-treatment for the anaerobic digestion of waste activated sludge. **Bioresource technology**, v. 102, n. 5, p. 4124–30, mar. 2011.
- ARAGAW, T.; ANDARGIE, M.; GESSESSE, A. Co-digestion of cattle manure with organic kitchen waste to increase biogas production using rumen fluid as inoculums. **International Journal of Physical Sciences**, v. 8, n. 11, p. 443–450, 2013.
- BARROS, V. G. DE; DUDA, R. M.; OLIVEIRA, R. A. DE. Biomethane production from vinasse in upflow anaerobic sludge blanket reactors inoculated with granular sludge. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 628–639, 2016.
- BELLE, A. J. et al. Anaerobic co-digestion of forage radish and dairy manure in complete mix digesters. **Bioresource Technology**, v. 178, n. February, p. 230–237, 2015.
- BONIN, A. S.; BOONE, D. R. The Order Methanobacteriales Characteristics of Methanobacteriales. **Prokaryotes**, v. 3, p. 231–243, 2006.
- BOUALLAGUI, H. et al. Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 3–4, p. 989–995, mar. 2005.

- BOUALLAGUI, H. et al. Improvement of fruit and vegetable waste anaerobic digestion performance and stability with co-substrates addition. **Journal of environmental management**, v. 90, n. 5, p. 1844–9, abr. 2009.
- CALIJURI, M. L. et al. Tratamento de esgotos sanitários em sistemas reatores UASB/wetlands construídas de fluxo horizontal: eficiência e estabilidade de remoção de matéria orgânica, sólidos, nutrientes e coliformes. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 14, n. 3, p. 421–430, 2009.
- CAMPOS, R. P.; VALENTE, J. P.; PEREIRA, W. E. Conservação pós-colheita de banana cv. nanicão climatizada e comercializada em Cuiabá - MT e região. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 1, p. 172–174, 2003.
- CAVINATO, C. et al. Optimization of two-phase thermophilic anaerobic digestion of biowaste for hydrogen and methane production through reject water recirculation. **Bioresource technology**, v. 102, n. 18, p. 8605–11, set. 2011.
- CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4044–4064, 2008.
- CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores Anaeróbios Princípios Do Tratamento Biológico Em águas Residuárias**. 2nd. ed. Belo Horizonte - MG: DESA/UFMG, 2007.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. **Lavras: UFLA**, p. 783, 2005.
- CONAMA, (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). **Resolução 357 de 17 de março de 2005. Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional**. Brasil, 2005.
- CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). **Resolução N. 375** Brasil, 2006.
- DAMIANOVIC, M. H. R. Z. **Degradação de pentaclorofenol (PCP) em reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF)**. [s.l.] Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.
- DAREIOTI, M. A.; KORNAROS, M. Anaerobic mesophilic co-digestion of ensiled sorghum, cheese whey and liquid cow manure in a two-stage CSTR system: Effect of hydraulic retention time. **Bioresource Technology**, v. 175, p. 553–562, 2015.
- DENG, Y. et al. Biogas as a sustainable energy source in China: Regional development strategy application and decision making. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 294–303, jul. 2014.
- DI MARIA, F. et al. Amount of energy recoverable from an existing sludge digester with the co-digestion with fruit and vegetable waste at reduced retention time. **Applied Energy**, v. 150, p. 9–14, jul. 2015.
- DUDA, R. M. et al. A balanced microbiota efficiently produces methane in a novel high-rate horizontal anaerobic reactor for the treatment of swine wastewater. **Bioresource Technology**, v. 197, p. 152–160, 2015.

ESPINOZA-ESCALANTE, F. M. et al. Anaerobic digestion of the vinasses from the fermentation of Agave tequilana Weber to tequila: The effect of pH, temperature and hydraulic retention time on the production of hydrogen and methane. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, n. 1, p. 14–20, jan. 2009.

FAO. **Food and Agriculture Organization** Rome, Italy, 2014. Disponível em: <www.fao.org>

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). **Global Food Losses and Food Waste**.

FELIZOLA, C. D. S.; LEITE, V. D.; PRASAD, S. Estudo Do Processo De Digestão Anaeróbia De Resíduos Sólidos Orgânicos E Aproveitamento Do Biogás. **Agropecuária Técnica**, v. 27, n. 1, p. 53–62, 2006.

FERREIRA, M. D. et al. Qualidade do tomate de mesa em diferentes etapas, da fase de pós-colheita. **Hortic. Bras.**, v. 26, n. 2, p. 231–235, 2008.

FORESTI, E. **Fundamentos do processo de digestão anaeróbia**. Apresentado em: Taller y Seminario Latinoamericano “Tratamiento anaerobio de aguas residuales”, 3, Montevideo, 25-28 oct. **Anais...Montevideo**: In: Universidad de la República. Tratamiento anaerobio., 1994

FORESTI, E. et al. Horizontal-Flow Anaerobic Immobilized Sludge (HAIS) reactor for paper industry wastewater treatment. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 12, p. 157–163, 1995.

GANESH, R. et al. Anaerobic co-digestion of solid waste: Effect of increasing organic loading rates and characterization of the solubilised organic matter. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 559–569, 2013.

GANESH, R. et al. Single-phase and two-phase anaerobic digestion of fruit and vegetable waste: comparison of start-up, reactor stability and process performance. **Waste management (New York, N.Y.)**, v. 34, n. 5, p. 875–885, maio 2014.

GARCIA, J.-L.; OLLIVIER, B.; WHITMAN, W. B. The Order Methanomicrobiales. **Prokaryotes Vol. 3**, p. 208–230, 2006.

GEORGE, J. B.; MWANGANGI, B. M. Some factors affecting banana storage and ripening: a case study of banana handling and ripening in Kenya. **Acta Horticulturae**, n. 368, p. 628–633, 1994.

GHOSH, S. et al. **Pilot-scale gasification of municipal solid wastes by high-rate and two-phase anaerobic digestion (TPAD)**. [s.l.: s.n.], v. 41

HENZ, G. P.; MORETTI, C. L. M. Tomate: Manejo pós-colheita. **Cultiv. HF**, p. 24–28, 2005.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_%5Bmensal%5D/Fasciculo/2013/lspa_201308.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2017.

INSTITUTO TRATA BRASIL. **Saneamento no Brasil**. Disponível em: <<http://www.tratabrasil.org.br/saneamento-no-brasil>>. Acesso em: 10 mar. 2017.

JAIN, S. et al. A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 142–154, dez. 2015.

JANG, H. M. et al. Reactor performance and methanogenic archaea species in thermophilic anaerobic co-digestion of waste activated sludge mixed with food wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 276, p. 20–28, 2015.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 7ª edição ed. [s.l.] ABES, 2014.

JÚNIOR, A. D. N. F. et al. Thermophilic anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. **Renewable Energy**, v. 89, p. 245–252, 2016.

KARAKASHEV, D. et al. Acetate oxidation is the dominant methanogenic pathway from acetate in the absence of Methanosaetaceae. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 7, p. 5138–5141, 2006.

KENDALL, M. M.; BOONE, D. R. The Order Methanosarcinales. **Prokaryotes Vol. 6**, p. 244–256, 2006.

KITINOJA, L.; KADER, A. A. Measuring postharvest losses of fresh fruits and vegetables in developing countries. n. September, p. 1–26, 2015.

KOCH, K. et al. Co-digestion of food waste in a municipal wastewater treatment plant: Comparison of batch tests and full-scale experiences. **Waste Management**, v. 47, p. 28–33, 2016.

KUCZMAN, O. et al. Cassava starch extraction effluent treatment in a one phase tubular horizontal pilot reactor with support medium. **Engenharia Agrícola**, v. 34, n. 6, p. 1270–1282, dez. 2014.

LAMEGO NETO, L. G.; COSTA, R. H. R. DA. Tratamento de esgoto sanitário em reator híbrido em bateladas sequenciais: eficiência e estabilidade na remoção de matéria orgânica e nutrientes (N, P). **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 16, n. 4, p. 411–420, dez. 2011.

LANDINE, R. C. et al. Anaerobic treatment of high strength, high solids potato waste. **Agricultural Wastes**, v. 7, n. 2, p. 111–123, jan. 1983.

LEE, D. H.; ZO, Y. G.; KIM, S. J. Nonradioactive method to study genetic profiles of natural bacterial communities by PCR-single-strand-conformation polymorphism. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 9, p. 3112–3120, 1996.

LEITE, V. D. et al. Bioestabilização anaeróbica de resíduos sólidos orgânicos: aspectos quantitativos. **Tecno-Lógica**, v. 18, n. 2, p. 90–96, 2015.

LI, Y. Y. et al. Solid state anaerobic co-digestion of tomato residues with dairy manure and corn stover for biogas production. **Bioresource Technology**, v. 217, p. 50–55, 2016.

- LICHTEMBERG, L.A., BOAS, E.V.B.V., DIAS, M.S.C., 2008. Bananicultura irrigada: inovações tecnológicas. **Informe Agropecuário**, p. 92–110, 2008.
- LIN, J. et al. Effects of mixture ratio on anaerobic co-digestion with fruit and vegetable waste and food waste of China. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 8, p. 1403–1408, ago. 2011.
- LINKE, B. et al. Mesophilic anaerobic co-digestion of cow manure and biogas crops in full scale German biogas plants: A model for calculating the effect of hydraulic retention time and VS crop proportion in the mixture on methane yield from digester and from digestate sto. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 689–695, 2013.
- LIU, X. et al. Pilot-scale anaerobic co-digestion of municipal biomass waste: Focusing on biogas production and GHG reduction. **Renewable Energy**, v. 44, p. 463–468, 2012.
- MAZARELI, R. C. DA S. et al. Anaerobic co-digestion of vegetable waste and swine wastewater in high-rate horizontal reactors with fixed bed. **Waste Management**, v. 52, p. 112–121, 2016.
- MAZARELI, R. C. S. **CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS VEGETAIS E ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE SUINOCULTURA EM REATORES HORIZONTAIS DE LEITO FIXO E ALTA TAXA**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista - UNESP, 2015.
- MCMAHON, K. D. et al. ANAEROBIC CODIGESTION OF MUNICIPAL SOLID WASTE AND BIOSOLIDS UNDER VARIOUS MIXING CONDITIONS } II : MICROBIAL POPULATION DYNAMICS. v. 35, n. 7, p. 1817–1827, 2001.
- MEERBURG, F. A. et al. Toward energy-neutral wastewater treatment: a high-rate contact stabilization process to maximally recover sewage organics. **Bioresource technology**, v. 179, p. 373–81, mar. 2015.
- MENEZES, J. M. C. Influência da Concentração de Sólidos Totais e Temperatura na Bioestabilização Anaeróbia de Resíduos Sólidos Orgânicos. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental), Centro de Ciências e Tecnologias, Universidade Estadual da Paraíba**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2012.
- MOLINUEVO-SALCES, B. et al. Anaerobic co-digestion of livestock and vegetable processing wastes: Fibre degradation and digestate stability. **Waste Management**, v. 33, n. 6, p. 1332–1338, 2013.
- NIELSEN, H. B.; ANGELIDAKI, I. Strategies for optimizing recovery of the biogas process following ammonia inhibition. **Bioresource technology**, v. 99, n. 17, p. 7995–8001, nov. 2008.
- NIZAMI, A. S.; MURPHY, J. D. What type of digester configurations should be employed to produce biomethane from grass silage? **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 6, p. 1558–1568, 2010.
- OLIVERIA, R. A.; FORESTI, E. Balanço de massa de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) tratando águas residuárias de suinocultura. **Engenharia Agrícola**, v. 24, n. 3, p. 807–820, 2004.
- PARAWIRA, W. et al. Anaerobic batch digestion of solid potato waste alone and in

- combination with sugar beet leaves. **Renewable Energy**, v. 29, n. 11, p. 1811–1823, 2004.
- PARK, N. D. et al. Increased biogas production in a wastewater treatment plant by anaerobic co-digestion of fruit and vegetable waste and sewer sludge - A full scale study. **Water Science and Technology**, v. 64, n. 9, p. 1851–1856, 2011.
- PEDROZA, M. et al. Produção e tratamento de lodo de esgoto—uma revisão. **Revista Liberato**, v. 11, n. 16, p. 89–188, 2010.
- RAJASULOCHANA, P.; PREETHY, V. Comparison on efficiency of various techniques in treatment of waste and sewage water – A comprehensive review. **Resource-Efficient Technologies**, v. 2, n. 4, p. 175–184, out. 2016.
- RAMIRES, R. D.; DE OLIVEIRA, R. A. Cod, tss, nutrients and coliforms removals in uasb reactors in two stages treating swine wastewater. **Engenharia Agrícola**, v. 34, n. 6, 2014.
- RAMIRES, R. D. R. D.; OLIVEIRA, R. A. DE; DE OLIVEIRA, R. A. COD, TSS, nutrients and coliforms removals in UASB reactors in two stages treating swine wastewater. **Engenharia Agrícola**, v. 34, n. 6, p. 1256–1269, 2014.
- RIAÑO, B.; MOLINUEVO, B.; GARCÍA-GONZÁLEZ, M. C. Potential for methane production from anaerobic co-digestion of swine manure with winery wastewater. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 5, p. 4131–4136, 2011.
- RIGGIO, V.; COMINO, E.; ROSSO, M. Energy production from anaerobic co-digestion processing of cow slurry, olive pomace and apple pulp. **Renewable Energy**, v. 83, p. 1043–1049, 2015.
- RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal of Water Pollution**, v. 58, p. 406–411, 1986.
- ROMANO, R. T.; ZHANG, R. Anaerobic digestion of onion residuals using a mesophilic Anaerobic Phased Solids Digester. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 10, p. 4174–4179, out. 2011.
- SALSALI, H. R.; PARKER, W. J.; SATTAR, S. A. Impact of concentration, temperature, and pH on inactivation of *Salmonella* spp. by volatile fatty acids in anaerobic digestion. **Canadian journal of microbiology**, v. 52, n. 4, p. 279–286, 2006.
- SANTOS, K.; VIEIRA, W. Destino final: o lixo. Comunicado especial: Abastecer Brasil. **Associação Brasileira das Centrais de Abastecimento**, n. 5, p. 8–12, 2011.
- SANTOS, A. C. DOS; OLIVEIRA, R. A. Tratamento De Águas Residuárias De Suinocultura Em Reatores Anaeróbios Horizontais Seguidos De Reator Aeróbio Em Batelada Sequencial. **Engenharia Agrícola**, v. 31, n. 4, p. 781–794, 2011.
- SARTI, A. **Avaliação de Desempenho do Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) no Tratamento de Substrato Sintético Simulando Esgoto Sanitário**. [s.l.] Universidade de São Paulo, São Carlos - SP, 1998.

SCHUNURER, A.; JARVIS, A. Microbiological Handbook for Biogas Plants. **Waste Management**, p. 138, 2009.

SHARMA, R.; OBEROI, H. S.; DHILLON, G. S. **Chapter 2 – Fruit and Vegetable Processing Waste: Renewable Feed Stocks for Enzyme Production**. [s.l.] Elsevier Inc., 2016.

SHI, X.-S. et al. Modeling of the methane production and pH value during the anaerobic co-digestion of dairy manure and spent mushroom substrate. **Chemical Engineering Journal**, v. 244, p. 258–263, maio 2014.

SILVA, S. R.; AGUIAR, M. M. DE; MENDONÇA, A. S. F. Correlação entre DBO e DQO em esgotos domésticos para a região da Grande Vitória - ES. **XIX Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, n. 1, p. 981–990, 1997.

SINGH, S. P.; PRERNA, P. Review of recent advances in anaerobic packed-bed biogas reactors. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, n. 6–7, p. 1569–1575, 2009.

SONG, M.; SHIN, S. G.; HWANG, S. Methanogenic population dynamics assessed by real-time quantitative PCR in sludge granule in upflow anaerobic sludge blanket treating swine wastewater. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1 SUPPL., p. S23–S28, 2010.

SOUZA, A. T.; PEIXOTO, A. N.; WACHHOLZ, D. **Banana (Estudo de economia e mercado de produtos agrícolas,2)**. Florianópolis - SC: [s.n.].

SPEECE, R. E. **Anaerobic Biotechnology and Odor/Corrosion Control for Municipalities and Industries**. Nashville, Tennessee: Archae Press, 2008.

TIAN, H. et al. Anaerobic co-digestion of kitchen waste and pig manure with different mixing ratios. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 120, n. 1, p. 51–57, 2015.

UÇKUN KIRAN, E. et al. Production of biogas via anaerobic digestion. In: **Handbook of Biofuels Production**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 259–301.

VALDERI, D. L. et al. Tratamento de resíduos sólidos de centrais de abastecimento e feiras livres em reator anaeróbio de batelada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 2, p. 318–322, 2003.

VAN HAAMDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Tratamento anaeróbio de esgotos: um manual para regiões de clima quente**. Campina Grande - PB: Epgraf, 1994.

VAN HAANDEL, A.; LETTINGA, G. **Anaerobic Sewage Treatment: A Practical Guide for Regions with a Hot Climate**. Chichester, UK: John Wiley and Sons, 1994.

VERSTRAETE, W.; VAN DE CAVEYE, P.; DIAMANTIS, V. Maximum use of resources present in domestic “used water”. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5537–5545, 2009.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – Princípios básicos do tratamento de esgotos**. [s.l.] Universidade Federal de

Minas Gerais, 1996.

WEILAND, P. Biogas production: Current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 4, p. 849–860, 2010.

WELLINGER, A. Biogas: Simply the best. **European Biogas Association**, p. 1–24, 2011.

WPTC (THE WORLD PROCESSING TOMATO COUNCIL). **Tomato World Production Estimate as of 27 October 2016**. Disponível em: <[http://www.wptc.to/pdf/releases/WPTC World Production estimate as of 27 October 2016.pdf](http://www.wptc.to/pdf/releases/WPTC%20World%20Production%20estimate%20as%20of%2027%20October%202016.pdf)>. Acesso em: 15 jan. 2017.

WU, W. Anaerobic co-digestion of biomass for methane production: recent research achievements. **Optimization**, p. 1–10, 2007.

WU, Y. et al. A new method of two-phase anaerobic digestion for fruit and vegetable waste treatment. **Bioresource technology**, v. 211, p. 16–23, jul. 2016.

XIE, S. et al. Effect of pig manure to grass silage ratio on methane production in batch anaerobic co-digestion of concentrated pig manure and grass silage. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p. 5728–5733, 2011.

YAO, Y. et al. Water free anaerobic co-digestion of vegetable processing waste with cattle slurry for methane production at high total solid content. **Energy**, v. 74, n. C, p. 309–313, 2014.

YUAN, J. et al. Shifts in methanogen community structure and function across a coastal marsh transect: effects of exotic *Spartina alterniflora* invasion. **Scientific reports**, v. 6, n. October 2015, p. 18777, 2016.

ZACARIAS SYLVESTRE, S. H.; LUX HOPPE, E. G.; DE OLIVEIRA, R. A. Removal of total coliforms, thermotolerant coliforms, and helminth eggs in swine production wastewater treated in anaerobic and aerobic reactors. **International Journal of Microbiology**, v. 2014, 2014.

ZAIAT, M. et al. Rational Basis for Designing Horizontal-Flow Anaerobic Immobilized Sludge (HAIS) Reactor for Wastewater Treatment. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 14, n. 1, p. 251–262, mar. 1997.

ZAIAT, M. **Desenvolvimento e análise de biorreatores anaeróbios contendo células imobilizadas para o tratamento de águas residuárias: reator anaeróbio horizontal de leito fixo e reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais**. [s.l.] Universidade de São Paulo, São Carlos - SP, 2003.

ZAIAT, M.; CABRAL, A. K. A.; FORESTI, E. Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo Para Tratamento de Águas Residuárias: Concepção e Avaliação Preliminar de Desempenho. **Revista Brasileira de Engenharia**, v. 11, n. 2, p. 33–42, 1994.

ZAIAT, M.; PASSIG, F. H.; FORESTI, E. Aplicação De Reator Anaeróbio Horizontal De Leito Fixo Para Tratamento De Esgoto Doméstico – Parte 1: Modelo Matemático E Critérios Para Projeto. **Gestión ambiental en el siglo XXI**, v. XXI, p. 1–14, 1998.

ZHAI, N. et al. Effect of initial pH on anaerobic co-digestion of kitchen waste and cow

manure. **Waste Management**, v. 38, p. 126–131, 2015.

ZHANG, C. et al. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 38, p. 383–392, out. 2014.

ZHANG, X. et al. Influence of sewage treatment on China's energy consumption and economy and its performances. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 49, p. 1009–1018, set. 2015.

ZHAO, Y. et al. The effect of mixing intensity on the performance and microbial dynamics of a single vertical reactor integrating acidogenic and methanogenic phases in lignocellulosic biomass digestion. **Bioresource Technology**, v. 238, p. 542–551, 2017.

ZHENG, Z. et al. Effect of dairy manure to switchgrass co-digestion ratio on methane production and the bacterial community in batch anaerobic digestion. **Applied Energy**, v. 151, p. 249–257, 2015.

ZUO, Z. et al. Effects of organic loading rate and effluent recirculation on the performance of two-stage anaerobic digestion of vegetable waste. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 556–561, 2013.