



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

MARIANA MOLINA QUINTERO

**TRATAMENTO BIOLÓGICO DE SORO DE QUEIJO UTILIZANDO UM
SISTEMA FERMENTATIVO CONCOMITANTE COM DIGESTÃO
ANAERÓBIA**

São José do Rio Preto

2019

MARIANA MOLINA QUINTERO

**TRATAMENTO BIOLÓGICO DE SORO DE QUEIJO UTILIZANDO UM
SISTEMA FERMENTATIVO CONCOMITANTE COM DIGESTÃO
ANAERÓBIA**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós- Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração – Engenharia de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi
Coorientador: Prof. Dr. Denis Cantú Lozano

São José do Rio Preto - SP

2019

Q7t

Quintero, Mariana Molina

Tratamento biológico de soro de queijo utilizando um sistema fermentativo concomitante com digestão anaeróbia / Mariana Molina

Quintero. -- São José do Rio Preto, 2019

120 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Vanildo Luiz Del Bianchi

Coorientador: Denis Cantú Lozano

1. Tratamento de efluentes. 2. Digestão anaeróbia. 3. Soro de queijo. 4. *kluveromyces marxianus*. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

MARIANA MOLINA QUINTERO

**TRATAMENTO BIOLÓGICO DE SORO DE QUEIJO UTILIZANDO UM
SISTEMA FERMENTATIVO CONCOMITANTE COM DIGESTÃO
ANAERÓBIA**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração – Engenharia de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi

UNESP – São José do Rio Preto -SP

Orientador

Prof^a. Dr^a Gisele Ferreira Bueno

UpScience Labs Solutions – Hortolândia – SP

Prof^a. Dr^a Gleyce Teixeira Correia

Fundação Educacional de Fernandópolis

Fernandópolis – SP

Prof. Dr. Gustavo O. Bonilla Rodriguez

UNESP – São José do Rio Preto -SP

Prof^a. Dr^a Valdenia Cristina Mendes Mendonça

Instituto Federal De Educação, Ciência E Tecnologia Do Maranhão

IFMA – São Luís – MA

Pro. Dr. Denis Cantú Lozano

Tecnológico Nacional de México – Instituto Tecnológico de Orizaba-México

Co-orientador (Convidado)

São José do Rio Preto

26 de abril de 2019

*A minha mãe Ana Maria Quintero Hernández,
o motivo por eu estar aqui, dedico com amor este trabalho.*

*A mi mamá Ana Maria Quintero Hernández,
el motivo por estar aquí, dedico con amor este trabajo.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a minha mãe por ter acreditado em mim mesmo com tendo todas as dificuldades e sobre tudo com a distancia, você sempre me apoiou, você é minha força, minha base, meu motivo para seguir em pé, porque, mesmo com tudo contra, com você do meu lado nada é impossível; te amo mãe;

Agradeço a minha família: minha avó Lulu, minhas tias Monica, Yolanda, Violeta, Rufina, meus tios: Alejandro e Felipe, meus primos: Cristian, Israel, Samuel, Benjamin, Miranda, Alex, Alexandra, pelo carinho e apoio;

Ao Arturo agradeço infinitamente por ficar do meu lado e vir até aqui procurando nossos sonhos, obrigada pelas “gambiaras”, conselhos (alguns desnecessários), paciência, apoio, etc., etc,... obrigada;

Ao meu orientador Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi, que mesmo ele não goste de ser chamado de Dr, ele é um doutor da vida, sempre resolvendo os problemas acadêmicos e não tão acadêmicos dos seus orientados. Não tenho palavras para agradecer a confiança, o conhecimento e os conselhos que me fizeram crescer como pessoa e como profissional;

A meus amigos e agora família brasileira: Guilherme, Samara, Mariana Oliveira, Raphael, Jorge, Valdenia, Ariane, Gisele, Wellington, Elisa, Tiago, Larissa, Renato, Ingrid, Raul. Meus amigos estrangeiros: Alba, David, Quinten, Angelica Otero, Camila, Ariel, Ezequiel, Ana Maria, Rina, Luisa;

A meus amigos mexicanos: Alejandra Urias, Alejandra Escartin, Etna, Marlene, Guillermo, Enrique, Francisco;

Ao Prof. Dr. Denis Cantú Lozano pelo conhecimento e principalmente por mostrar o caminho além do México.

A Prof. Dra. Giovana Tommaso Monzani pela matéria-prima e reator emprestado.

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, por proporcionar condições para a realização deste trabalho;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pelo auxílio financeiro por meio de bolsa concedida;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001^{*}, à qual agradeço,

A todos membros da banca que aceitaram gentilmente participar deste momento, e por suas sugestões que foram muito bem-vindas;

A todos que de uma certa maneira participaram desta conquista.

RESUMO

A digestão anaeróbia é empregada para o tratamento de poluentes orgânicos mediante a biodegradabilidade para a geração de biogás e economia de recursos. Por outro lado, o processo de fermentação com uso de leveduras tem sido muito estudado para a geração de álcool e biomassa, sem considerar que durante o mesmo as leveduras também realizam a degradação da matéria orgânica. A junção de ambos processos (fermentação - digestão anaeróbia) possibilitará obter remoções a partir de altas concentrações de substrato. O presente projeto é baseado no tratamento de efluentes da indústria de laticínios com a combinação do processo fermentativo da levedura *Kluyveromyces marxianus* e a digestão anaeróbia por manta de lodo. Fez-se um teste parcial de atividade lipolítica para a produção de lipase com a finalidade de degradar a fase lipídica formada pela gordura dos laticínios no reator anaeróbio compartimentado-RAC. Para o tratamento com levedura foi utilizado um reator de bolhas e um reator aeróbio-anaeróbio compartimentado – RAAC, com volume total de 3,8 L, com conexão a um sedimentador de 2 L com tempo de retenção hidráulico - TRH de 1 dia. Para o tratamento com digestão anaeróbia, foi usado um RAC de 35,7 L e um RAC de 5 L, sendo este último usado para os ensaios nos sistemas concomitantes. Os resultados parciais da atividade lipolítica obtiveram até $4,55 \mu\text{mol.mL}^{-1}$. Obteve-se uma remoção de 98% com uma alimentação de entrada de $9.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$ para o RAAC. No reator de bolhas a remoção foi de 63,3% para a concentração de $3.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$. O RAC de 5 L do sistema integrado alcançou uma remoção de 89,9%. Para o tratamento anaeróbio, os resultados dos 2 ensaios no RAC de 5 L foram de 10,5% no ensaio 1 e 71% no ensaio 2. A maior remoção obtida no RAC de 35,7 L foi para $1.190 \text{ mg DQO.L}^{-1}$ com remoção de 90,8% de DQO.

Palavras-chave: Soro de queijo, digestão anaeróbia, tratamento de efluentes, *Kluyveromyces marxianus*, bioreatores

ABSTRACT

*Anaerobic digestion is used for the treatment of organic pollutants through biodegradability for generation of biogas and resource savings. On the other hand, yeast fermentation process has been studied for generation of alcohol and biomass, without consider that, during the same yeasts also carry out the degradation of organic matter. The combination of both processes (fermentation - anaerobic digestion) will allow to obtain removals from high substrate concentrations. The present project was based on treatment of effluents from dairy industry with combination of the fermentative process of yeast *Kluyveromyces marxianus* and anaerobic digestion by sludge blanket. A partial lipolytic activity test was performed for lipase production in order to degrade the lipid phase formed by milk fat in the compartmentalized anaerobic reactor-CAR. For yeast treatment, a blast reactor and a compartmentalized aerobic-anaerobic reactor - CAAR, with a total volume of 3.8 L were used, with connection to a 2 L settler with hydraulic retention time - HRT of 1 day. For treatment with anaerobic digestion, a CAR of 35.7 L and a CAR of 5 L was used, latter being used for assays in concomitant systems. The partial results of lipolytic activity obtained up to $4.55 \mu\text{mol.mL}^{-1}$. A 98% removal was achieved with an inlet feed of $9,000 \text{ mg COD.L}^{-1}$ for CAAR. In bubble reactor, removal was 63.3% for concentration of $3,000 \text{ mg COD.L}^{-1}$. The CAR of 5 L of integrated system achieved a 89.9% removal. For anaerobic treatment, the results of 2 trials in the 5 L RAC were 10.5% in assay 1 and 71% in assay 2. The highest removal obtained in RAC of 35.7 L was $1,190 \text{ mg COD. L}^{-1}$ with removal of 90.8% COD.*

Key words: *Cheese whey, anaerobic digestion, effluent treatment, *Kluyveromyces marxianus*, bioreactor.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reator anaeróbio compartimentado	43
Figura 2. Reator aeróbio-anaeróbio compartimentado – RAAC	73
Figura 3. Reator de coluna de bolhas ^a , sedimentador ^b , reator anaeróbio compartimentado - RAC ^c	86
Figura 4. Sedimentador vertical	93
Figura 5. Resultado de DQO do ensaio 1 para o sistema concomitante com $S_0 = 28.100 \text{ mg DQO.L}^{-1}$	98
Figura 6. Ensaio 1b do sistema concomitante com $S_0 = 28.100 \text{ mg DQO.L}^{-1}$ na entrada do fermentador e amostragem sem centrifugar	99
Figura 7. Resultado de DQO do ensaio 2 para o sistema concomitante com $S_0 = 32.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$	100
Figura 8. Resultado de DQO do ensaio 3 para o sistema concomitante com $S_0 = 36.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$	101
Figura 9. Resultado de DQO do ensaio 4 para o sistema concomitante com $S_0 = 24.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$	103
Figura 10. Resultado de DQO do ensaio 5 para o sistema concomitante com $S_0 = 17.900 \text{ mg DQO.L}^{-1}$	104
Figura 11. Resultado de DQO do ensaio 6 para o sistema concomitante com $S_0 = 17.900 \text{ mg DQO.L}^{-1}$	105
Figura 12. Curva padrão de ácido caproico	112
Figura 13. Curva padrão de lactose	113

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados de DQO do ensaio 1 em RAC com $S_0 = 650 \text{ mg DQO.L}^{-1}$	44
Tabela 2. Resultados de pH do ensaio 1 em RAC de 5L com $S_0 = 650 \text{ mg DQO.L}^{-1}$	44
Tabela 3. Resultados de DQO do ensaio 2 em RAC de 5 L com $S_0 = 650 \text{ mg DQO.L}^{-1}$ e adição de 500 mL de lodo	45
Tabela 4. Resultados de pH do ensaio 2 em RAC de 5 L com $S_0 = 650 \text{ mg DQO.L}^{-1}$ e adição de 500 mL de lodo	45
Tabela 5. Métodos Analíticos	48
Tabela 6. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do ensaio 1, com $S_0 = 550 \text{ mg DQO.L}^{-1}$	49
Tabela 7. Valores de DQO no RAC de 35,7L ao longo do tempo do ensaio 2, com $S_0 = 650 \text{ mg DQO.L}^{-1}$. a) abril 2015, b) maio 2015, c) junho 2015	49
Tabela 8. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do ensaio 3, com $S_0 = 1.190 \text{ mg DQO.L}^{-1}$	50
Tabela 9. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do, ensaio 4, com $S_0 = 2.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$. a) Mês de agosto, b) Mês de setembro . 51	
Tabela 10. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do, ensaio 5 ^{a,b} , com $S_0 = 3.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$. Mês de outubro e novembro	52
Tabela 11. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do ensaio 6 ^{a,e} , com $S_0 = 2.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$	52

Tabela 12. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do ensaio 7 ^{a,b} , com S ₀ = 2.000 e 3.000 mg DQO.L ⁻¹ . Fevereiro-março 2016	53
Tabela 13. Valores de DQO no RAC de 35,7L ao longo do tempo do ensaio 8 ^{a,b+e} , com S ₀ = 3.000 e 2.000 mg DQO.L ⁻¹	53
Tabela 14. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do ensaio 9 ^{a,b+e} , com S ₀ = 2.000 mg DQO.L ⁻¹	54
Tabela 15. Comparação de resultados dos ensaios em RAC 35,7 L	55
Tabela 16. Média de pH no RAC de 35,7 L ao longo do tempo	56
Tabela 17. Média de acidez e alcalinidade no RAC de 35,7 L ao longo do tempo.....	57
Tabela 18. Determinação da atividade lipolítica do extrato bruto em creme de leite	64
Tabela 19. Ensaio de tolerância de lodo anaeróbio ao álcool em diferentes concentrações	69
Tabela 20. Condições dos ensaios preliminares no RAAC	73
Tabela 21. DQO do RAAC, substrato inicial: 25.700, 3.000 e 7.900 mg DQO.L ⁻¹	75
Tabela 22. pH do RAAC, S ₀ = 25.700, 3.000 e 7.900 mg DQO.L ⁻¹	76
Tabela 23. DQO do RAAC, S ₀ = 687 mg DQO.L ⁻¹	76
Tabela 24. pH do RAAC, S ₀ = 687 mg DQO.L ⁻¹	77
Tabela 25. DQO do RAAC, substrato inicial: 3.025 mg DQO.L ⁻¹	77

Tabela 26. pH do RAAC, substrato inicial: 3.025 mg DQO.L ⁻¹	78
Tabela 27. DQO RAAC $S_0 = 6.500$ mg DQO.L ⁻¹	78
Tabela 28. pH de RAAC, $S_0 = 6.500$ mg DQO.L ⁻¹	79
Tabela 29. DQO de RAAC, $S_0 = 9,000$ mg DQO.L ⁻¹	79
Tabela 30. pH de RAAC, $S_0 = 9,000$ mg DQO.L ⁻¹	80
Tabela 31. Condições de ensaios preliminares em reator de coluna de bolhas, sedimentador e RAC em alimentação continua	85
Tabela 32. Resultado de DQO do ensaio 1, 2 e 3 em alimentação continua do reator de bolhas, sedimentador e RAC de 5 L.....	88
Tabela 33. Resultado de pH do ensaio 1, 2 e 3 em alimentação continua do sedimentador ao RAC de 5 L.....	89
Tabela 34. Métodos Analíticos	94
Tabela 35. Condições de ensaios em sistema concomitante: fermentador, sedimentador e RAC de 5 compartimentos em alimentação continua	96
Tabela 36. Condições de ensaios em sistema concomitante: fermentador e RAC de 4 compartimentos.....	96
Tabela 37. Resultados da caracterização de soro de queijo	97
Tabela 38. Resultados de eficiência.....	107
Tabela 39. Eficiências do ensaio 1	114
Tabela 40. Eficiências do ensaio 2	115
Tabela 41. Eficiências do ensaio 3	116

Tabela 42. Eficiências do ensaio 4	118
Tabela 43. Eficiências do ensaio 5	119
Tabela 44. Eficiências do ensaio 6	120

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio, mg DBO.L ⁻¹
DNS	Ácido Dinitrosalicílico, g.L ⁻¹
DQO	Demanda Química de Oxigênio, mg DQO.L ⁻¹
g.L⁻¹	Gramas por litro
h	Horas
L.dia⁻¹	Litros / dia
mg.CaCO₃.L⁻¹	Miligramas de carbonato de cálcio por Litro
mg.L⁻¹	Miligrama por litro
PDA	Potato Dextrose Agar
pH	Potencial Hidrogeniônico
RAC	Reator Anaeróbico Compartimentado
RAAC	Reator Aeróbico - Anaeróbico Compartimentado
rpm	Rotação por Minuto
TRH	Tempo de Residência Hidráulico
μmol.mL⁻¹	Micromol / mililitro
SSV	Sólidos suspensos voláteis, mg.L ⁻¹
S	Concentração de substrato, mg DQO.L ⁻¹
S₀	Substrato inicial, mg.L ⁻¹
UASB	Upflow anaerobic sludge reactor /reator anaeróbico de fluxo ascendente
v/v	volume / volume

SUMARIO

INTRODUÇÃO	20
OBJETIVO GERAL	22
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO	23
1 CAPITULO I: Revisão Bibliográfica.....	25
1.1 Soro de queijo	26
1.2 Lipídios	27
1.3 Lipases.....	27
1.4 <i>Kluyveromyces marxianus</i>	29
1.5 Fermentação alcoólica.....	29
1.6 Reator vertical de bolhas.....	31
1.7 Digestão anaeróbia.....	31
1.8 Reatores anaeróbios.....	33
2 CAPITULO II: Tratamento de soro de queijo por digestão anaeróbia.....	41
2.1 (parte 1) Tratamento de soro de queijo em um reator RAC de 5 L.....	42
2.1.1 Introdução	42
2.1.2 Objetivo	42
2.1.3 Material e métodos.....	42
2.1.4 Resultados	43
2.1.5 Conclusões	46
2.2 (PARTE 2) TRATAMENTO DE SORO DE QUEIJO EM UM RAC DE 35,7 L.....	47

2.2.1	Introdução	47
2.2.2	Objetivo	47
2.2.3	Material e métodos.....	47
2.2.4	Resultados	49
2.2.5	Conclusões	58
2.3	Referências	58
3	CAPITULO III: Isolamento de fungos produtores de lipase para o tratamento de gordura do soro de queijo.....	60
3.1	Introdução	61
3.2	Objetivos	61
3.3	Material e métodos.....	61
3.3.1	Micro-organismos.....	61
3.3.2	Preparação do extrato enzimático bruto.....	62
3.3.3	Determinação da atividade lipolítica.....	62
3.4	Resultados	63
3.4.1	Isolamento e seleção de micro-organismos	63
3.5	Conclusões	65
3.6	Referências	65
4	CAPITULO IV: Tolerância ao álcool em lodo anaeróbio.....	67
4.1	Introdução.....	67
4.3	Material e métodos.....	68
4.3.1	Teste de tolerância ao álcool em lodo anaeróbio	68
4.4	Resultados	68

4.4.1	Resultados nos ensaios de tolerância de lodo anaeróbio ao álcool.....	68
4.5	Conclusões.....	69
4.6	Referências.....	69
5	Capítulo V: Tratamento de soro de queijo com levedura <i>Kluyveromyces marxianus</i> em um reator aeróbio - anaeróbio compartimentado.....	71
5.1	Introdução.....	71
5.2	Objetivo.....	72
5.3	Material e métodos.....	72
5.3.1	Processo aeróbio	72
5.3.2	Processo anaeróbio	72
5.3.3	Meio de cultura para crescimento de <i>Kluyveromyces marxianus</i>	73
5.3.4	Água residuária	74
5.3.5	Micro-organismos.....	74
5.4	Resultados.....	74
5.4.1	Resultados de ensaios e RAAC	74
5.5	Conclusões.....	81
5.6	Referências	82
6	CAPÍTULO VI: Tratamento de soro de queijo em um sistema integrado com levedura em um reator de coluna de bolhas, sedimentador e reator anaeróbio compartimentado (RAC).....	83
6.1	Introdução	84
6.2	Objetivo.....	84
6.3	Material e métodos.....	84

6.3.1	Reator de bolhas.....	84
6.3.2	Sedimentação de levedura.....	85
6.4	Resultados	87
6.4.1	Sistema integrado por reator de coluna de bolhas, sedimentador e RAC de 5 L	87
6.5	Conclusões.....	90
7	CAPITULO VII: Tratamento de soro de queijo em um sistema concomitante de um fermentador e um reator anaeróbio compartimentado - RAC.....	91
7.1	Introdução.....	92
7.2	Objetivo	92
7.3	Material e métodos	92
7.3.1	Preparação de inóculo	92
7.3.2	Fermentação de soro de queijo.....	93
7.3.3	Sedimentação da levedura.....	93
7.3.4	Tratamento em RAC	94
7.3.5	Caracterização físico-química de soro de queijo.....	94
7.3.6	Condições dos ensaios	96
7.3.7	Análise dos resultados	97
7.4.1	Caracterização do soro de queijo.....	97
7.4.2	Resultados de Ensaio.....	97
7.4.3	Resultados análises de dados	107
7.5	Conclusões	108
7.6	Referências	108
8	CONCLUSÃO GERAL.....	110

9	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	111
	APÊNDICE A. Curva padrão de ácido caproico	112
	APÊNDICE B. Curva padrão de lactose para DNS	113
	APÊNDICE C. Eficiências dos ensaios	114

INTRODUÇÃO

O soro de queijo é a porção aquosa do leite, que retém aproximadamente 55% dos nutrientes quando separado do coalho durante a produção de queijo. Tem uma grande importância pelo volume gerado e conteúdo nutricional com 6,0 % de sólidos totais, 5,0% de lactose, 1,0% de proteínas, 0,1 % de gordura, 0,8% de minerais e 0,9% de ácido láctico. Pela quantidade gerada de soro na produção de queijo de 9 L para cada kg do produto, assim como a pouca utilidade deste na indústria, virou-se um problema de suma importância devido à elevada carga orgânica de 68.000 mg DQO.L⁻¹. O soro representa 95% dos 32,1 bilhões de litros de leite por ano produzido no Brasil, tornando-se um grande poluente da indústria de laticínios.

O soro de queijo, embora seja empregado principalmente como proteína de soro para suplemento alimentício (em inglês, Whey Protein Concentrate – WPC), assim como na alimentação animal e na produção de etanol, ainda não se conseguiu utilizar nem a metade da sua produção gerada no país, pelo que é de vital importância dar um tratamento a este resíduo antes de ser descartado.

A produção de soro motivou o uso do processo fermentativo, assim como do processo aeróbio para encorajar a produção de biomassa usando como substrato o soro de queijo, o que já foi pesquisado até com valores de concentração inicial de 60 g.L⁻¹ de soro de queijo, com resultados favoráveis.

A integração de ambos processos é uma inovação dentro da área de tratamento de efluentes com resíduos de alto teor de matéria orgânica, pois o efluente conseguirá entrar com uma carga orgânica suportável no processo anaeróbio, obtendo um resíduo com baixa carga orgânica.

Este trabalho está focado na redução de DQO do soro de queijo mediante diferentes métodos de tratamento de efluentes por sistemas separados e em um sistema concomitante de processos aeróbio ou fermentação com *Kluyveromyces marxianus*, sedimentação de células de levedura, reutilização de células de levedura, tratamento de gordura do soro de queijo mediante a geração e uso de lipase e a avaliação de reatores anaeróbios compartimentados. Nesta pesquisa, procura-se por soluções possíveis para o tratamento de efluentes, com intuito de diversificar e a sua vez integrar sistemas aeróbios e anaeróbios, para a remoção de poluentes com concentrações elevadas de carga orgânica. Desta forma, com possibilidades de obter, além da remoção de matéria orgânica, coprodutos com alto valor agregado, como a biomassa de levedura, álcool e biogás com a finalidade de ser utilizado como biocombustível.

OBJETIVO GERAL

Tratamento de efluentes provenientes de resíduos de laticínios, usando, como pre-tratamento, levedura para concentrações elevadas de carga orgânica e continuar com o posterior tratamento em um reator anaeróbio compartimentado (RAC).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a remoção da carga orgânica do soro de queijo tipo ricota, utilizando dois reatores anaeróbios compartimentados.

Obter lipases presentes em fungos isolados de frutas e provenientes de tratamento anaeróbio de laticínios, para a hidrolises de lipase presente em resíduos de laticínios.

Avaliar a tolerância de etanol em lodo anaeróbio.

Avaliar o tratamento de soro de queijo em um reator aeróbio-anaeróbio compartimentado - RAAC.

Averiguar o comportamento de um sistema concomitante utilizando um reator vertical de coluna de bolhas com *Kluyveromyces marxianus*, seguido de um sedimentador e um RAC para o tratamento do soro de queijo.

Avaliar a capacidade de remoção da matéria orgânica do soro queijo, em um sistema concomitante conformado por fermentação da *Kluyveromyces marxianus*, sedimentação de levedura e tratamento do sobrenadante proveniente do sedimentador em um reator anaeróbio compartimentado – RAC.

ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO

A tese foi organizada em 7 capítulos, como descrito a seguir:

Capítulo I: Esse capítulo é constituído por uma revisão bibliográfica que aborda soro de queijo, composição, quantidade de produção no Brasil. Por outra parte tem os lipídeos assim como lipases para obtidas por fungos para hidrolisar a lipase presente em laticínios. Posteriormente faz menção da levedura *Kluyveromyces marxianus* a qual é utilizada para a fermentação do soro de queijo. Inclui fermentação alcoólica e reatores verticais de bolhas que são utilizados em processo de aerobiose da *K. marxianus*. Além, da digestão anaeróbia e de reatores anaeróbios para o tratamento de resíduos de laticínios.

Capítulo II: Esse capítulo apresenta o tratamento de soro de queijo por digestão anaeróbia, dividido em duas partes: a primeira parte inclui o tratamento de soro de queijo em um reator anaeróbio compartimentado-RAC de 5 L e a segunda parte o tratamento em um RAC de 35,7 L, avaliando nos dois reatores a remoção da carga orgânica presente no soro de queijo em termos de DQO.

Capítulo III: De acordo aos resultados obtidos no capítulo anterior, se realizou o isolamento de fungos produtores de lipase para o tratamento de gordura presente no soro de queijo, a qual esteve presente no RAC. Os resultados foram avaliados de acordo a atividade lipolítica da lipase extraída dos fungos isolados.

Capítulo IV: Nesse capítulo, se realizaram testes de álcool no lodo anaeróbio para avaliar a tolerância do lodo anaeróbio ao etanol, pois a *Kluyveromyces marxianus* produz certa quantidade de álcool em processo anaeróbio, o qual foi testado no sistema concomitante nos próximos capítulos.

Capítulo V: O capítulo reporta os resultados dos testes realizados em um reator aeróbio - anaeróbio compartimentado – RAAC, utilizando na fase aeróbia a levedura *Kluyveromyces marxianus* e na fase anaeróbia lodo anaeróbio, para a remoção de matéria orgânica do soro de queijo.

Capítulo VI: O capítulo apresenta um sistema concomitantes para o tratamento de soro de queijo em um reator de coluna de bolhas utilizando a *Kluyveromyces marxianus* em processo aeróbio, um sedimentador para a separação da biomassa de levedura e um RAC com lodo anaeróbio para finalizar com a remoção do substrato.

Capítulo VII: De acordo com os resultados dos capítulos anteriores, esse capítulo inclui o tratamento de soro de queijo em um sistema concomitante de um fermentador utilizando a *Kluyveromyces marxianus* em fase anaeróbia, para posteriormente destilar o álcool gerado durante o processo fermentativo e separar a biomassa de levedura em um sedimentador, finalizando o sistema concomitante com o tratamento do sobrenadante em um RAC com lodo anaeróbio.

1 CAPÍTULO I: Revisão Bibliográfica

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Soro de queijo

O soro de leite é produzido em grandes quantidades pela indústria de queijo e converte-se em um grande problema na eliminação de resíduos. O soro de leite contém uma alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO), em torno de 30.000 a 60.000 mg.L⁻¹, que depende do processo de elaboração de queijo e do conteúdo de lactose, sendo que para cada quilograma de queijo produzido se geram 9 kg de soro (PADÍN; DÍAZ, 2009).

O soro é um líquido opaco, obtido após a precipitação da caseína por meio de coagulação ácida ou enzimática, restando no soro quase 55% dos nutrientes contidos no leite e até 20% das proteínas. Dependendo do processo de produção do queijo, pode-se dividir em dois tipos: soro ácido, a partir de coagulação ácida e soro doce, pela coagulação enzimática (VAZ *et al.*, 2012). O soro de leite *in natura* contém aproximadamente 93,6% de água e 6,4% de sólidos e o soro desidratado contém 12% de proteínas, 3% de gordura, 10% de minerais e 75% de lactose (WONG; CAMIRANT; PAVLATH, 1996).

Em média, cada tonelada de soro não tratado por dia, no sistema de tratamento de esgoto, equivale a carga poluidora de cerca de 470 pessoas (ZALL, 1979).

O principal hidrato de carbono, presente no leite é a lactose. Contém aproximadamente 15% do poder adoçante da sacarose e contribui, junto com os sais, com o sabor geral do leite. Esta se produz pela ligação da molécula de galactose e glicose (BADUI, 2006).

A lactose também é o componente principal do soro de queijo e é responsável pela elevada DQO e DBO presente neste produto, e assim a sua recuperação ou reutilização é de vital importância (MURARI, 2017).

1.2 Lipídios

Os lipídios podem ser sólidos ou líquidos a temperatura ambiente, sendo que os lipídios sólidos, considerados como gorduras são sólidos e de origem animal, enquanto que os lipídios líquidos são conhecidos como óleos e a maioria são de origem vegetal (PINHEIRO; PORTO; MENEZES, 2005).

Os ácidos graxos em forma pura, chamados comumente de gorduras e óleos, estão constituídos exclusivamente por triglicerídeos, que por sua vez são ésteres de ácidos graxos com glicerol. Os lipídios do leite representam um número de substâncias solúveis em solventes orgânicos correspondentes a 96 e 98% do grupo de triglicerídeos. As propriedades físico-químicas variam de acordo com a quantidade de ácidos graxos presentes no leite e consequentemente no soro. Os principais lipídios presentes no leite são: diacilglicerídeos, monoacilglicerídeos, fosfolipídios, ácidos graxos livres, esteróis e ésteres e alguns hidrocarbonetos (BADUI, 2006).

1.3 Lipases

Lipases são um grupo de enzimas que podem catalisar a hidrólise de triacilgliceróis (ésteres de glicerol e ácidos graxos de cadeia curta e cadeia longa), produzindo ácidos graxos livres, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e glicerol, e, em condições onde o nível de água é restrito, realizam a reação inversa, produzindo glicerídeos a partir de glicerol e ácidos graxos (COIMBRA *et al.*, 2012).

As lipases microbianas apresentam fatores como estabilidade em solventes orgânicos, não requerem cofatores, possuem especificidade de substratos, que dependerá do tipo de reação e de substrato que demonstra um enorme potencial biotecnológico (ELIBOL; OZER, 2000).

Fungos filamentosos, bactérias e leveduras são conhecidos como bons produtores de lipases. Dentre os mais pesquisados se encontram: *Fusarium solani*, *Penicillium restrictum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus niger*, *Candida rugosa*, *Yarrowia lipolytica*, *Rhizomucor pusillus*, *Rhizopus rhizopodiformis* e *Penicillium simplicissimum* (VARGAS, 2004).

É de interesse a identificação de novas fontes microbianas, não tóxicas ao organismo humano, pois garantem o suprimento de enzimas aos mais variados processos industriais, assim como ao tratamento de efluentes, tornando possível o desenvolvimento de novos sistemas enzimáticos que não podem ser realizados a partir de enzimas vegetais ou animais (ROVEDA *et al.*, 2010; SHARMA *et. al*, 2001). No entanto, o uso industrial das lipases é limitado pela estabilidade com seleção ao pH, temperatura e solventes orgânicos (MICHAUX *et al.*, 2010).

Os resíduos provenientes da agroindústria na produção de lipase por fermentação em estado solido – FES são utilizados como fonte de nutrientes para o crescimento microbiano, por exemplo: óleos vegetais (óleo de oliva, óleo de soja, óleo de babaçu, óleo gergelim, óleo de semente de girassol, óleo de coco) e subprodutos como farelo de casca de trigo, farelo de cevada, farelo de arroz dentre outros (VARGAS, 2004). A utilização de resíduos agroindustriais tem mostrado eficiência para a produção de lipase, com nível baixo de umidade (MARTINS; KALIL; COSTA, 2008).

1.4 *Kluyveromyces marxianus*

Kluyveromyces é um gênero de leveduras da família *Saccharomycetaceae* em que as células são esferóides ou ovóides e podem fermentar a glicose, sendo que a *Kluyveromyces marxianus* é uma variedade *lactis* e pode fermentar a lactose (SINGLETON e SINSBURY, 2006).

Fermenta naturalmente lactose por ter a enzima β -galactosidase, que é a encarregada de hidrolisar glicose e galactose (VAZ et al., 2012), e cresce em temperaturas de 20-30 °C e pH DE 4,5-5 (PADÍN; DÍAZ, 2009). As leveduras *Kluyveromices marxianus* e *fragilis* são utilizada no bioprocessamento do soro de leite para obter, entre outros produtos, álcoois (etanol e glicerol), enzimas (α e β -galactosidase) e proteína unicelular (PUC). A *Kluyveromyces marxianus* possui um elevado conteúdo de proteínas, o que converte em um potencial suplemento proteico para ração animal. É encontrada em uma ampla variedade de frutas e é capaz de alterar a qualidade de queijos, iogurte e leite, além de intervir na fermentação natural de bebidas alcoólicas (QUINTERO et al., 2001).

1.5 Fermentação alcoólica

A fermentação do soro do queijo para a produção de etanol pode se apresentar como uma alternativa viável pois, além de reduzir o potencial poluidor deste resíduo, pode gerar um produto de maior valor agregado. Estudos têm demonstrado que, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e soro de queijo “tipo coalho” desproteinizado e adicionando sacarose, pode-se obter uma conversão de substrato em etanol de 76,14% (FLORÊNCIO, et al. 2013).

O teor relativamente elevado de lactose presente no soro permite a bioconversão em etanol, de acordo com a reação, na qual se obtém um rendimento alcoólico teórico de 0,5368 g de etanol por grama de lactose consumida, converter (SANSONETTI *et al.*, 2009). A fermentação da lactose do soro de queijo utilizando leveduras é referida na literatura desde 1940 (GUIMARÃES; TEIXEIRA; DOMINGUES, 2010; GRBA *et al.*, 2002).

A produção de etanol a partir de diversos resíduos como o celulose mediante a sacarificação e fermentação simultânea, assim como a hidrólise e fermentação separada usando *Kluyveromyces marxianus*, é uma alternativa viável, devido a que, considerando uma produção de 40 g.L⁻¹ de etanol, a *Kluyveromyces marxianus* gera uma redução de 79% de produção teórica de açúcares redutores contidos neste resíduo (MADRID; CARLOS; DÍAZ, 2011).

Santos *et al.* (2015) avaliaram o comportamento de uma cepa de *Saccharomyces cerevisiae* com características floculantes e a reciclagem das células para a fermentação de etanol em um sistema de reatores de duas torres, no qual cada torre foi equipada individualmente com um sedimentador para reciclagem de levedura, obtendo uma eficiência de 86% na produção com a levedura reciclada.

É importante ressaltar que a fermentação anaeróbia é um método para o tratamento de resíduos que transforma substratos orgânicos em bioprodutos de valor agregado como o hidrogênio e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC); podem ser utilizados como fonte externa de carbono para a eliminação de nutrientes biológicos ou como substrato bruto para plástico biodegradável (LIU *et al.*, 2019).

1.6 Reator vertical de bolhas

A invenção de tecnologias desenvolvidas para a melhoria e desempenho da produção do setor sucroalcooleiro no Brasil alcança uma fundamental importância nos últimos anos. O uso de reatores tubulares verticais ou de torre provam a variedade de equipamentos para produção de etanol a partir de leveduras com características floculantes mediante a fermentação, obtendo rendimentos de 98%, produtividade de 13,4 g etanol.L⁻¹.h⁻¹ e concentração residual de sacarose de 3,1 g.L⁻¹. O uso destes reatores tipo torre para a fermentação alcoólica com leveduras, comparados com os dados reportados pela literatura, forneceu maior produtividade e rendimento de álcool (PACHECO, 2010).

A preocupação com o meio ambiente aumentou na última década, com a implementação de novas tecnologias, como os reatores de coluna de bolhas para o tratamento de poluentes. Estes biorreatores usam diversos micro-organismos (leveduras e microalgas) e são excelentes para a obtenção de fontes de energia alternativas como biodiesel e etanol. O tratamento para o consumo de CO₂ usando microalga *Chlorella minutissima*, em um fotobiorreator de bolhas com variação de ar, faz a biomassa flutuar dificultando a circulação homogênea no reator. No entanto, usando levedura, a biomassa fica homogênea e em contato com o meio, sendo uma boa alternativa para a produção de etanol ou ácido láctico (JARENKOW, 2011).

1.7 Digestão anaeróbia

O processo de digestão anaeróbia é um dos mais antigos, utilizados na degradação de matéria orgânica em ausência de oxigênio. Os lodos são introduzidos no reator de forma contínua ou intermitente e permanecem dentro do reator. O lodo estabilizado, que é extraído do processo, tem um baixo conteúdo de matéria orgânica e de micro-organismos patógenos vivos (KEENAN; KORMI, 1977).

A digestão anaeróbia é um processo biológico no qual uma série de micro-organismos, em ausência de oxigênio, promove a transformação de compostos orgânicos complexos (carboidratos, proteínas e lipídios) em produtos mais simples como metano, gás carbônico e outros gases em menor proporção. Para chegar a produzir biogás, se apresentam quatro etapas durante as quais o meio a tratar (substrato) passa por um processo de degradação, iniciando com a hidrólise, onde os carboidratos liberam glicose, os lipídios ácidos graxos e as proteínas aminoácidos. Na segunda etapa do processo, os compostos gerados na hidrólise são absorvidos pelas bactérias fermentativas e excretadas como ácidos graxos voláteis de cadeia curta, álcoois, ácido láctico, CO_2 , H_2 , NH_3 , H_2S , chamando a etapa como acidogênese. Na seguinte etapa, acetogênese, os produtos resultantes na etapa anterior são transformados em acetato, H_2 e CO_2 (COHEN, 1987).

De acordo com Keenan; Kormi (1977), em reatores de batelada alimentada ou métodos em batelada para geração de coprodutos da indústria cervejeira, na metanogênese são gerados aproximadamente 60% de metano proveniente do acetato. A produção de metano pode alcançar valores de até $22,64 \text{ L.dia}^{-1}$ com TRH de 10 dias e remoções de 51,3 % com uma faixa de temperatura do tratamento anaeróbio de 32 - 37° C.

Cichello; Tommaso; Ribeiro (2012) realizaram o tratamento de efluentes de laticínio em um reator UASB (em inglês, upflow anaerobic sludge blanket) híbrido (UASBh), mediante a aplicação de cargas orgânicas volumétricas crescentes, para realizar o estudo cinético do sistema. O reator do tipo UASBh operou com uma carga orgânica volumétrica média de até $8,9 \text{ Kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. A velocidade de consumo de substrato não acompanhou o aumento da carga orgânica, mantendo-se praticamente constante, resultando em queda na eficiência do processo e em sua estabilidade.

Weber (2012) trabalhou no tratamento de efluentes de uma micro-destilaria utilizando um UASB, obtendo remoções de 81,5% para vinhaça proveniente de cana de açúcar e de 95,7% para vinhaça de batata.

1.8 Reatores anaeróbios

A configuração de um reator é um dos mais importantes aspectos que influi no rendimento global de um processo de digestão anaeróbia. Suas características podem afetar fortemente o processo fermentativo, especialmente por meio da retenção de biomassa, do comportamento hidrodinâmico, da população microbiana que se desenvolve e da efetividade do contato do substrato com os micro-organismos (BABU *et al.*, 2009).

Hamerski (2012) trabalhou no tratamento de efluentes de laticínios em um UASB em estado estacionário com volume total de 0,018 m³, TDH 0,085 dias, taxa de carregamento hidráulico de 11,7 m³.m⁻³.d⁻¹ e uma concentração de substrato de 2.148 mg DQO.L⁻¹, assim como uma taxa de reciclo de 100% pela baixa TDH, obtendo uma remoção de 58,6% e uma concentração de excesso de lodo, ficando explícita a necessidade do descarte deste durante sua operação.

Ao longo do tempo, foram testados diferentes tipos de reatores para o tratamento de soro de queijo: reator de filme fixo de fluxo ascendente (GANNOUN *et al.*, 2008), contator biológico rotativo anaeróbio (em inglês, anaerobic rotating biological contactor (AnRBC)) (PATEL; MADAMWAR, 1997), um sistema de duas fases que consiste em um reator de tanque completamente agitado (em inglês, completely stirred tank reactor (CSTR)) em estado hidrolítico e um AnRBC em estado metanogênico (LO; LIAO, 1988), reator anaeróbio de fluxo ascendente (em inglês, upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB)) (YAN *et al.*, 1990), assim como dois sistemas conformados por um CSTR e um UASB (DIAMANTIS *et al.*, 2014)

e um biorreator anaeróbio de membrana (em inglês, anaerobic membrane bioreactor (AnMBR)) (SADDOUD *et al.*, 2007).

A utilização de altas taxas de carga orgânica, as quais estão correlacionadas com um baixo tempo de detenção hidráulica em sistemas de digestão anaeróbia, pode inibir a atividade dos micro-organismos metanogênicos (AMORIM, 2006).

Oliveira, Duda e Fernandes (2015) utilizaram um reator anaeróbio compartimentado (em inglês, anaerobic baffled reactor, ABR) de três câmaras, para o tratamento de águas residuais de suinocultura com concentrações de carga orgânica de 5,0 g DQO.L.d⁻¹, obtendo uma remoção de 42%. Silva, Silva e Sarti (2016) utilizando um ABR para o tratamento do mesmo resíduo obtiveram uma remoção de 60%, mas utilizando uma concentração de 10,1 g DQO.L.d⁻¹.

Outro tipo de reator para o tratamento de soro de queijo é o reator contínuo de tanque agitado CSTR (em inglês, CSTR) tal como Peprah *et al.* (2018), que trabalharam com o tratamento de soro de queijo utilizando um CSTR mesofílico (37 ° C) e termofílico (54 ° C) em diferentes condições operacionais, mostrando resultados viáveis em condições mesofílicas, enquanto em condições termofílicas ocorreram incidentes frequentes de acidificação.

Assim sendo, o intuito desse estudo foi de utilizar sistemas concomitantes para a remoção de águas residuária de laticínio com elevada carga orgânica.

1.9 Referências

AMORIM, E. L. C., BARROS, A. R., SHIDA, G. M., DAMIANOVIC, M. H. R. Z., SILVA., E. L. Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production in anaerobic fluidized bed reactor. **Process Biochemistry**. 41(10), 2118-2123. 2006.

BABU, V. L.; MOHAN, S. V.; SARMA, P. N. Influence of reactor configuration on fermentative hydrogen production during wastewater treatment. **International Journal of Hydrogen Energy, Oxford**. 34, 3305-3312, 2009.

BADUI, D. S. **Química de los alimentos**. editorial Pearson, quarta edição, 603-608. 2006.

CICHELO, G. C. V; TOMMASO, G.; RIBEIRO, R. Characterization and Kinetics of the Anaerobic Treatment of Dairy Wastewaters. **Unopar Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**. 15, 27–40. 2012.

COHEN, A. Process for anaerobic fermentation of solid wastes in water in two phases. Google Patents. 1987. Disponível em: <<https://www.google.com/patents/US4652374>>

COIMBRA, M. C., PINTO, T. O. P., D'ARCADIA-CRUZ, V., DE OLIVANETO P. Isolation and selection of lipolytic enzymes-producing fungi. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. 71, 50-55. 2012.

DIAMANTIS, V.I., KAPAGIANNIDIS, A.G., NTOUGIAS, S., TATAKI, V., MELIDIS, P., AIVASIDIS, A. Two-stage CSTR–UASB digestion enables superior and alkali addition-free cheese whey treatment. **Biochemical Engineering Journal**. 84, 45–52. 2014.

ELIBOL, M., OZER, D. Influence of oxygen transfer on lipase production by *Rhizopus arrhizus*. **Process Biochemistry**. 36, 325-329. 2000.

FLORENCIO, I. M., FLORENTINO., E. R., SILVA, F. L. H., MARTINS, R. S., CAVALCANTI, M. T., GOMES J. P. Produção de etanol a partir de lactossoro industrial. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. 17(10), 1088–1092. 2013.

GANNOUN, H., KHELIFI, E., BOUALLAGUI, H., TOUHAMI, Y., HAMDI, M. Ecological clarification of cheese whey prior to anaerobic digestion in upflow anaerobic filter. **Bioresource Technology**. 99, 6105–6111. 2008.

GUIMARÃES, P.M.R., TEIXEIRA, J. A., DOMINGUES, L. Fermentation of lactose to bioethanol by yeast as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey”. **Biotechnology Advances**. 28, 375-383. 2010.

HAMERSKI, F. Ascendente com manta de lodo (UASB) no tratamento de efluentes. **Environmental Research**. 168, 109-117. 2012.

JARENKOW, A. Influência da vazão de entrada de ar no crescimento de microalgas em reator do tipo air-lift. Trabalho de diplomação em engenharia química. Universidade Federal de Rio Grande do Sul. 2011.

KEENAN, J. D., KORMI, I. Methane fermentation of brewery byproducts. **Biotechnology and bioengineering**. 19, 867-878. 1977.

LIU, X., XU , WANG, D., WU, Y., YANG , Q., LIU, Y., WANG, Q., LI, X., LI, H., ZENG, G., YANG, G. Unveiling the mechanisms of how cationic polyacrylamide affects short-chain fatty acids accumulation during longterm anaerobic fermentation of waste activated sludge. **Water Research**. 155, 142-151. 2019.

LO, K.V., LIAO, P.H. Laboratory scale studies on mesophilic anaerobic digestion of cheese whey in different digester configurations. **Journal of Agriculture Engineering Research**. 39, 99–105. 1988.

MADRID, L. M., CARLOS, J., DÍAZ, Q. Ethanol production from paper sludge using *Kluyveromyces marxianus* producción de etanol de lodos papeleros usando *Kluyveromyces marxianus*. **Dyna**. 78(170),185–191. 2011.

MARTINS, V. G., KALIL, S. J., COSTA, J. A V. Co-produção de lipase e biossurfactante em estado sólido para utilização em biorremediação de óleos vegetais e hidrocarbonetos. **Química Nova**. 31(8), 1942–1947. 2008.

MICHAUX, F., ZOUMPANIOTI, M., PAPAMENTZELOPOULOU, M., STE´BE´, M. J., BLIN, J. L., XENAKIS, A. Immobilization and activity of *Rhizomucor miehei* lipase, effect of the matrix properties prepared from nonionic fluorinated surfactants. **Process Biochemistry**. 45(1), 39–46. 2010.

MURARI, C. S. Isolamento, seleção e aplicação de leveduras não convencionais para produção de bioetanol a partir do soro de queijo. Tese de doutorado, IBILCE-UNESP. 2017.

OLIVEIRA, R. A. DE, DUDA, R. M., FERNANDES, G. F. R. Reator anaeróbio compartimentado para o tratamento de águas residuárias de suinocultura. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**. 19(4), 383–391. 2015.

PACHECO, T. F. Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. 2010.

- PADÍN, C., DÍAZ, M. Fermentación alcohólica del lactosuero por *Kluyveromyces marxianus* y solventes orgánicos como extractantes. **Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología**. 29, 110-116. 2009.
- PATEL, C., MADAMWAR, D. Biomethanization of salty cheese whey using anaerobic rotating biological contact reactor. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. 83 (5), 502–504. 1997.
- PEPRAH, M. et al. Microbial profiling during anaerobic digestion of cheese whey in reactors operated at different conditions. **Bioresource Technology**. 275, 375–385. 2018.
- PINHEIRO, D. M., PORTO, K. R. D. A., MENEZES, M. E. D. S. A Química dos Alimentos : carboidratos , vitaminas e minerais. **Conversando sobre ciências em Alagoas**. 1–54. 2005.
- QUINTERO, H., RODRIGUEZ, M., PÁEZ, G., FERRER, J., MARMOL, Z., RINCÓN, M. Producción continua de proteína microbiana (*K. Fragilis*) a partir de suero de leche. **Revista Científica FCV-LUZ**. 11(2), 87- 94. 2001.
- ROVEDA, M., HEMKEMEIER, M., COLLA, L. M. Avaliação da produção de lipases por diferentes cepas de micro-organismos isolados em efluentes de laticínios por fermentação submersa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**. 30(1), 126-131. 2010.
- SADDOUD, A., HASSAIRI, I., SAYADI, S. Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. **Bioresource of Technology**. 98, 2102–2108. 2007.
- SANSONETTI S., CURCIO S., CALABRÒ V., IORIO G. Bio-ethanol production by fermentation of ricotta cheese whey as an effective alternative non-vegetable source. **Biomass and Bioenergy**. 33(12), 1687- 1692. 2009.

SANTOS, L. D., SOUSA, M. D. B., GUIDINI, C. Z., RESENDE, M. M. DE, CARDOSO, V. L., RIBEIRO, E. J. Continuous ethanol fermentation in tower reactors with cell recycling using flocculent *Saccharomyces cerevisiae*. **Process Biochemistry**. 50(11), 1725–1729. 2015.

SHARMA, R., CHISTI, Y., BANERJEE, U. C. Production, purification, characterization, and applications of lipases. **Biotechnol**. 19, 627-662. 2001.

SILVA, J. A. DA; SILVA, G. H. R. DA; SARTI, A. Tratamento de esgoto sanitário de baixa carga utilizando reator compartimentado anaeróbio /aeróbio em escala piloto. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**. 22(3), 539–549. 2016.

VARGAS G. D. L. P. Estudo da produção de lipase por *Penicillium simplicissimum* utilizando torta de soja como substrato. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim. 2004.

WEBER, D. P. Aplicação de um reator anaeróbio de alta eficiencia para o tratamento de efluentes de uma microdestilaria de álcool. Universidade Federal de Santa Maria centro. 2012.

VAZ, J., BRAGA, K., DORTA, C. Reaproveitamento do soro de leite bovino para produção de biomassa por *kluveromyces marxianus* 229. **Revista Alimentus**. 2, 36-57. 2012.

WONG, D. W. S.; CAMIRANT, W. M.; PAVLATH, A. E. Structures and functionalities of milk proteins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 36(8), 807-844. 1996.

YAN, J.Q., LO, K.V., LIAO, P.H. Anaerobic digestion of cheese whey using an upflow anaerobic sludge blanket reactor: III. Sludge and substrate profiles. **Biomass** 21, 257–271. 1990.

2 CAPITULO II: Tratamento de soro de queijo por digestão anaeróbia

2.1 (parte 1) Tratamento de soro de queijo em um reator RAC de 5 L

2.1.1 Introdução

Existem diferentes tipos de processos para a digestão anaeróbia, os quais podem ser classificados em batelada, batelada alimentada e contínuo, empregados dependendo do volume e do tipo de meio a ser tratado. Os reatores compartimentados têm a vantagem do líquido ter maior contato com o lodo, o qual resulta em satisfatória remoção de carga orgânica, além de ter separadas as fases do processo de digestão anaeróbia que podem ser controladas para a obtenção de diversos subprodutos como gás metano, hidrogênio e CO₂.

2.1.2 Objetivo

Obter a remoção da carga orgânica do soro de queijo tipo ricota, utilizando um reator anaeróbio compartimentado (RAC) de 5 L, avaliando o TRH e a capacidade de remoção em unidades de DQO de cada sistema.

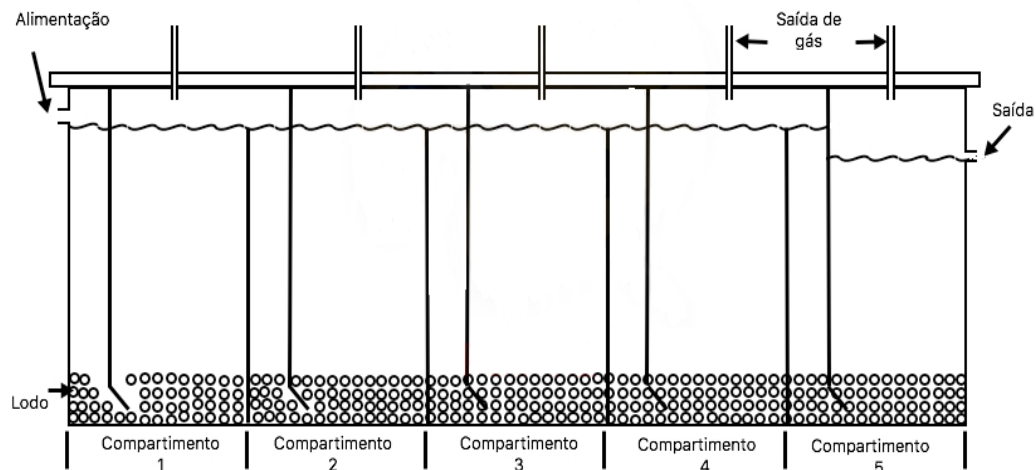
2.1.3 Material e métodos

2.1.3.1 Condições operacionais do reator anaeróbio compartimentado – RAC

O tratamento anaeróbio do soro de queijo foi realizado em um RAC de 5L, dividido em cinco compartimentos, com entrada de alimentação pela parte de cima, tendo fluxo ascendente, tal como se apresenta na Figura 3.

O reator foi feito de acrílico com uma tampa do mesmo material, a qual foi vedada para impedir a entrada de oxigênio, com adaptações na superfície na altura de cada compartimento para retirar amostra e a saída de biogás.

Figura 1. Reator anaeróbio compartimentado



Realizaram-se dois ensaios com alimentação inicial de 1 g.L^{-1} de soro de queijo, equivalente a $650 \text{ mg DQO.L}^{-1}$. No ensaio 1, foi utilizado lodo anaeróbio não aclimatado, realizando-se correção até pH 9 com NaOH na entrada do substrato em um período de operação de 16 dias.

Para o ensaio 2, mantiveram-se as condições do ensaio 1, mas adicionou-se 100 mL de lodo sem adaptar em cada compartimento e a correção do pH foi realizada sempre que fosse necessário manter o pH 6,5, utilizando-se NaHCO_3 para manter por mais tempo o pH elevado e NaOH para alcançar um pH aproximado a 8 para contra restar a acidez do soro de queijo e manter a fase acidogênica o mais estável possível.

2.1.4 Resultados

2.1.4.1 Resultados dos ensaios experimentais em RAC de 5 L

Os resultados do ensaio 1 no RAC são apresentados na Tabela 1, os quais mostraram nula atividade na remoção.

Tabela 1. Resultados de DQO do ensaio 1 em RAC com $S_0 = 650$ mg DQO.L⁻¹

Compartimento	DQO (mg.L ⁻¹)			
	Dia 5	Dia 9	Dia 12	Dia 16
1	600	701	687	584
2	642	690	718	581
3	685	654	787	555
4	728	660	735	560
5	724	650	743	500
% Eficiência	0,0	0,0	0,0	23,0

O pH foi corrigido até 9 por causa da acidez do soro na alimentação do reator, o que pode ter interferido no granulo de lodo com o NaOH adicionado, considerando que o lodo trabalha na faixa de pH 6,5 e 7, inibindo o consumo de substrato pelo choque alcalino ocasionado. Na Tabela 2, pode-se observar que o pH se manteve entre 7,8 e 9,0, diminuindo, a partir do dia 9, até chegar a um pH considerado ideal para o processo de digestão anaeróbia.

Tabela 2. Resultados de pH do ensaio 1 em RAC de 5L com $S_0 = 650$ mg DQO.L⁻¹

Compartimento	Dia 5	Dia 9	Dia 12	Dia 16
1	9,0	7,7	6,9	6,5
2	8,7	6,8	6,9	6,7
3	8,2	6,8	7,0	6,7
4	8,0	6,8	7,1	6,9
5	7,8	6,8	7,5	7,0

A adição de 100 mL de lodo em cada compartimento se efetuou no ensaio 2, apresentado na Tabela 3. Do inicio até o dia 9, o reator trabalha com uma remoção na saída de 67,8 %. No entanto, a partir do dia 12, o lodo novamente se inativa por falta da aclimação previa do lodo.

Tabela 3. Resultados de DQO do ensaio 2 em RAC de 5 L com $S_0 = 650$ mg DQO.L⁻¹ e adição de 500 mL de lodo

Compartimento	DQO (mg.L ⁻¹)			
	Dia 5	Dia 9	Dia 12	Dia 16
1	526	550	756	641
2	459	561	659	651
3	425	514	661	684
4	475	454	655	655
5	202	209	643	652
% Eficiência	68,9	67,8	0,01	0%

A Tabela 4 apresenta os resultados do pH do ensaio 2. O pH não foi corrigido até o dia 10 porque o soro ia entrar em contato com o substrato do ensaio 1 presente já no reator. A correção demonstrou ter afetado o processo equivocadamente, uma vez que os reatores estavam estabilizados na faixa de remoção de 67%, perdendo totalmente a atividade após a introdução da correção.

Tabela 4. Resultados de pH do ensaio 2 em RAC de 5 L com $S_0 = 650$ mg DQO.L⁻¹ e adição de 500 mL de lodo

Compartimento	Dia 5	Dia 9	Dia 12	Dia 16
1	4,9	4,9	10,0	9,7
2	5,6	5,0	7,7	9,3
3	6,3	5,2	7,6	8,4
4	6,7	5,6	7,8	7,5
5	7,1	6,5	8,0	7,7

Jimenez e Mojica (2005) trabalharam com dois reatores de fluxo ascendente sem inóculo de lodo anaeróbico para o tratamento de águas residuais municipais, os quais se diferenciaram entre eles pela existência ou não de meio de suporte para biomassa.

Antes da estabilização do processo, obtiveram uma remoção de DQO de 50% com TRH de 16 h, obtendo uma estabilização depois de 4 meses, com remoções de 81,6% de DQO para o reator 1 e 86,4% para o reator 2, ambos com TRH de 10h. Pelo que é de vital importância não só a ativação do lodo, mas também a estabilização do reator para obter eficiências satisfatórias e evitar falhas dentro do sistema.

De acordo com os resultados dos dois ensaios, o tratamento em 16 dias, em cada teste, precisou de um período de maior tempo para realizar a ativação e posterior aclimação do lodo, o qual não foi realizado devido a que se considerou suficiente a procedência do lodo utilizado (proveniente de uma planta de tratamento laticínios). No entanto, o lodo tinha um período maior que um mês inativado, o que influencia contundentemente o tratamento do soro de queijo.

2.1.5 Conclusões

O tratamento de laticínios por processo de digestão anaeróbia em um RAC mostrou grandes vantagens tais como: longo tempo de retenção de substrato e baixa produção de lodo e separação das fases acidogênica e metanogênica; no entanto o acúmulo de ácidos graxos voláteis que captam o lodo levando para a superfície do reator e o pH ácido do soro, foram algumas desvantagens que interferem em grande medida na eficiência de remoção do processo utilizando este tipo de reator.

2.2 (PARTE 2) TRATAMENTO DE SORO DE QUEIJO EM UM RAC DE 35,7 L

2.2.1 Introdução

A segunda parte deste capítulo teve como foco a adaptação do lodo ao soro de queijo. Fez-se um acompanhamento de uma série de testes em escala com um RAC com volume de 35,7 L. Iniciou-se com uma alimentação em baixa concentração, testando soro de queijo, creme de leite e leite em pó como substrato e, posteriormente, foi aumentada a vazão de alimentação para diminuir o TRH. Durante os testes, foi avaliada a remoção da DQO para a verificação da efetividade do reator.

2.2.2 Objetivo

Remover a carga orgânica do soro de queijo tipo ricota, utilizando um reator anaeróbio compartimentado (RAC) de 35,7 L de volume total, avaliando o TRH e a capacidade de remoção em unidades de DQO de cada sistema.

2.2.3 Material e métodos

O fluxo de alimentação foi ascendente, pela parte inferior do reator e, para a velocidade de alimentação, foi utilizada uma bomba peristáltica MPV-500. As formas de alimentação do RAC de 35,7 L foram em batelada e continua com velocidade de 8 L.dia⁻¹ no período de abril-julho, 12 L.dia⁻¹ no período de agosto-setembro, 24 L.dia⁻¹ no mês de outubro, 32 L.dia⁻¹ nos meses de novembro, dezembro, fevereiro e março, 40 L.dia⁻¹ no mês de abril e 64 L.dia⁻¹ no mês de maio.

A concentração de alimentação no ensaio 1 foi de 550 mg DQO.L⁻¹ e no ensaio 2 de 650 mg DQO.L⁻¹. Já no ensaio 3 foi de 1,190 mg DQO.L⁻¹, 2.000 mg DQO.L⁻¹ (2 g de leite em pó e 7 g de creme de leite) para o ensaio 4 e de 3.000 mg DQO.L⁻¹ (4 g de leite em pó e 9,5 g creme de leite) no ensaio 5^{a,b}.

A partir do ensaio 6 foi adicionado um compartimento externo para diminuir o acúmulo de gordura no RAC, com volume total de 5 L e volume útil de 1,5 L de substrato e 500 mL de lodo, colocando para identificação o símbolo e letra +e nos ensaios onde foi utilizado este compartimento. Pelo tanto, o ensaio 6+e teve uma concentração inicial de 2.000 mg DQO.L⁻¹ (2 g de leite em pó e 7 g de creme de leite) igual que no ensaio 7^a+e, assim como de 3.000 (4 g de leite em pó e 9,5 g creme de leite) no ensaio 7^b+e. O ensaio 8^a+e trabalhou com 3.000 (4 g de leite em pó e 9,5 g creme de leite) e o 8^b+e e 9^{a,b}+e utilizaram a mesma concentração de 2.000 mg DQO.L⁻¹ (2 g de leite em pó e 7 g de creme de leite).

2.2.3.1 Caracterização físico-química de amostras em RAC de 35,7 L

Foram avaliadas as seguintes características físico-químicas: pH, acidez e alcalinidade, demanda química de oxigênio (DQO), feitas segundo Standard Methods (2005) (Tabela 5).

Tabela 5. Métodos Analíticos

Análise	Norma ou método
pH	pHmetro
DQO	Método Hach (APHA, 5220 D)
Alcalinidade	APHA, método 2320 B

O controle do pH (entre 7 e 8) foi realizado com adições de NaHCO₃ 1N e NaOH 1N. A temperatura foi mantida por meio de um aquecedor elétrico e um termopar, fixada em 32 °C. O reator foi instalado em um sistema fechado para evitar a incidência de luz.

2.2.4 Resultados

2.2.4.1 Resultados de ensaios preliminares do RAC de 35,7 L

Os resultados das análises de DQO nos ensaios em batelada (concentração inicial de substrato de 550 mg DQO.L⁻¹) encontram-se na Tabela 6. No ensaio 1, obteve-se uma remoção média de 74,4%.

Tabela 6. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do ensaio 1, com $S_0 = 550$ mg DQO.L⁻¹

TRH 10,2 dias							
Compartimento	DQO (mg.L ⁻¹)						
1	233	235	128	120	140	155	
2	180	183	281	282	236	315	
3	182	188	150	144	75	117	
4	151	149	191	191	175	143	
5	145	149	164	167	95	122	

Para o início do processo contínuo no RAC de 35,7 L, a concentração inicial do substrato foi de 650 mg DQO.L⁻¹ no ensaio 2, com uma vazão de 8 L.dia⁻¹ no mês de abril até a última semana de junho (Tabela 7), aumentando, depois, para 12 L.dia⁻¹ mantendo a mesma concentração inicial. A remoção média do sistema foi de 88,2%.

Tabela 7. Valores de DQO no RAC de 35,7L ao longo do tempo do ensaio 2, com $S_0 = 650$ mg DQO.L⁻¹. a) abril 2015, b) maio 2015, c) junho 2015
a)

TRH 10,2 dias													
Compartimento	DQO (mg.L ⁻¹)												
1	131	135	188	182	167	195	170	180	185	188	190	196	
2	190	183	190	188	175	170	235	235	170	169	184	185	
3	121	115	150	144	140	141	190	186	167	170	156	150	
4	88	90	134	133	143	134	102	110	126	128	119	117	
5	70	74	90	83	92	85	77	81	82	76	79	75	

b)

TRH 10,2 dias								
Compartimento	DQO (mg.L ⁻¹)							
1	188	187	190	191	186	170	187	182
2	160	172	--	--	--	--	--	--
3	150	147	--	--	--	--	--	--
4	127	125	--	--	--	--	--	--
5	89	74	76	78	66	82	69	71

c)

TRH 10,2 dias												
Compartimento	DQO (mg.L ⁻¹)											
1	186	190	191	201	187	178	176	180	189	198	288	282
2	--	--	--	--	--	--	--	--	177	170	180	188
3	--	--	--	--	--	--	--	--	158	166	157	144
4	--	--	--	--	--	--	--	--	133	128	111	113
5	73	73	75	76	70	67	76	78	69	78	68	70

(--)= Não analisado

Os resultados do ensaio 3 com substrato inicial de 1.190 mg DQO.L⁻¹ é mostrado na Tabela 8. Foram adicionados 700 mL de lodo granulado, para compensar a perda de lodo pela velocidade de arraste e a flutuação do mesmo por causa da formação de gordura, no compartimento um e dois. A remoção média do mês de julho foi de 91,1%.

Tabela 8. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do ensaio 3, com $S_0 = 1.190$ mg DQO.L⁻¹.

TRH 10,2 dias															
	DQO (mg.L ⁻¹)														
C1	270	290	259	270	267	258	260	257	265	650	626	270	267	267	259
C2	230	190	203	230	239	170	176	168	187	698	576	170	169	190	203
C3	121	165	162	121	113	95	92	100	99	541	536	106	112	165	162
C4	88	89	90	88	87	78	88	82	84	632	483	99	98	89	90
C5	67	60	70	67	64	66	67	70	63	481	219	78	66	65	70

C= Compartimento

O TRH para o ensaio 4 durante o mês de agosto se manteve em 10,2 dias, e o do mês de setembro foi diminuído para 4,5 dias, como é apresentado na Tabela 9. A remoção média foi de 95,4%.

Tabela 9. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do, ensaio 4, com $S_0 = 2.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$. a) Mês de agosto, b) Mês de setembro

TRH 10,2 dias									
Compartimento	DQO (mg.L^{-1})								
1	674	715	754	740	763	790	734		
2	638	600	411	680	665	678	621		
3	428	187	115	125	252	340	320		
4	450	115	65	113	119	178	199		
5	164	78	50	61	72	109	105		

TRH 4,5 dias									
Compartimento	DQO (mg.L^{-1})								
1	711	692	687	692	700	688	746	670	682
2	607	621	638	611	625	602	652	590	612
3	314	321	288	300	278	238	342	299	307
4	185	170	156	164	138	117	159	111	127
5	98	95	95	96	98	92	102	100	91

Depois da adaptação do lodo e estabilização do reator com a modificação do substrato, o ensaio 5^{a,b} se apresenta na Tabela 10 com resultados de DQO dos meses de outubro e novembro, onde a concentração de substrato inicial foi aumentada para $3.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$. Para o mês de outubro, o TRH trabalhado foi de 2,2 dias, diminuído para 1,1 dias no mês de novembro, obtendo valores de remoção de 50 mg DQO.L^{-1} , os mais baixos durante o ano todo. A remoção média do mês de outubro foi de 95% e, para o mês de novembro, com TRH 1,1 dias, foi de 97%.

Tabela 10. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do, ensaio 5^{a,b}, com $S_0 = 3.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$. Mês de outubro e novembro

Compartimento	DQO (mg.L^{-1})									
	TRH de 2,2 dias ^a					TRH de 1,1 dias ^b				
	Outubro					Novembro				
1	260	257	626	674	640	625	615	700	715	754
2	176	168	576	638	535	504	534	690	600	411
3	92	91	536	428	478	451	259	722	187	115
4	88	82	483	450	330	368	34	330	115	65
5	67	70	219	164	187	111	30	121	78	50

Devido à adição de leite em pó e creme de leite, a formação de gordura aumentou visivelmente no primeiro compartimento, pelo que foi feita a adição de um compartimento externo, conectado na entrada do RAC (ensaio 6+e). Os resultados de DQO do compartimento externo (que foi mantido até o mês de abril de 2016) se apresentam na Tabela 11. A remoção média foi de 92%.

Tabela 11. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do ensaio 6+e, com $S_0 = 2.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$

TRH de 1,1 dias										
Novembro					Dezembro					
DQO (mg.L ⁻¹)										
C Externo	1280	1198	1201	1237	1294	1119	1156	1303	1267	1248
C1	722	779	881	673	734	761	743	762	776	767
C2	750	654	806	618	642	707	694	619	636	689
C3	703	597	491	276	623	689	652	422	453	470
C4	636	385	263	147	379	303	315	266	286	276
C5	547	97	150	112	122	105	117	115	121	98

C = Compartimento

O reator foi parado por um período de um mês e meio, sendo reativado durante a segunda metade de fevereiro. Os valores apresentados na Tabela 12 do ensaio 7^{a,b+e} apresentam os resultados da remoção de DQO mostrando a estabilização do RAC com valores entre $460 \text{ mg DQO.L}^{-1}$ e $221 \text{ mg DQO.L}^{-1}$ (alimentação de $2.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$).

No mês de março, aumentou-se para 3.000 mg DQO.L⁻¹ novamente, e a estabilidade na saída do reator foi mantida na faixa média de 240 mg DQO.L⁻¹ (192-261 mg DQO.L⁻¹). A remoção média foi de 90,1%.

Tabela 12. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do ensaio 7^{a,b}, com S_0 = 2.000 e 3.000 mg DQO.L⁻¹. Fevereiro-março 2016

TRH de 1.1 dias										
2,000 mg DQO.L ^{-1 a}					3,000 mg DQO.L ^{-1 b}					
Fevereiro 2016					Março 2016					
DQO (mg.L ⁻¹)										
C Externo	1,635	1,029	1,095	1,500	1,700	1,810	1,905	1,119	1,630	1,510
C1	1,300	698	710	1300	940	1,237	1,294	1,035	1,029	1,105
C2	660	602	636	650	600	750	675	606	616	1,003
C3	525	489	415	604	610	540	605	658	651	607
C4	610	450	189	248	280	315	289	601	551	658
C5	460	275	131	276	221	192	215	261	230	251

C = Compartimento

Os resultados no mês de maio do ensaio 8^{a,b+e} se apresentam na Tabela 13, mostrando valores na saída do reator na faixa de 500 mg DQO.L⁻¹. Em vista disso, diminuiu-se a concentração inicial do substrato para uma avaliação da perda de eficiência do sistema. A remoção média no início do mês de abril foi de 82%, aumentando para 90,3% com a redução da concentração de alimentação.

Tabela 13. Valores de DQO no RAC de 35,7L ao longo do tempo do ensaio 8^{a,b+e}, com S_0 = 3.000 e 2.000 mg DQO.L⁻¹

TRH de 21,4 horas							
3,000 mg DQO.L ^{-1 a}				2,000 mg DQO.L ^{-1 b}			
Compartimento		DQO (mg.L ⁻¹)					
Externo	1,870	1,795	1,090	1,121	1,055	1,180	1,067
1	940	985	409	643	625	600	640
2	679	666	392	587	412	279	420
3	652	631	367	302	223	149	231
4	630	600	503	147	119	79	155
5	469	589	--*	155	107	79	120

(--) Não analisado

Na Tabela 14, estão apresentados os resultados do ensaio 9^{a,b+e} no mês de maio, onde se reduziu de 21,4 h para 13,4 h de TRH, com alimentação de 2.000 mg DQO.L⁻¹. O aumento da vazão ocasionou um arraste de lodo e formação de uma camada de gordura nos compartimentos externo e primeiro, causando uma desestabilização na eficiência do sistema. A média, que era de 96% com TRH de 21,4 h foi para 77,5% para TRH de 13,4 h, sendo que a principal fase de remoção ocorreu no compartimento externo, com os compartimentos internos praticamente não tendo atuação.

Tabela 14. Valores de DQO no RAC de 35,7 L ao longo do tempo do ensaio 9^{a,b+e}, com $S_0 = 2.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$

2000 mg.L ⁻¹								
TR de 21,4 horas ^a				TR de 13,4 horas ^b				
Compartimento	DQO (mg.L ⁻¹)							
Externo	995	940	932	1,004	637	689	659	686
1	610	604	555	612	681	677	648	601
2	172	202	331	278	630	629	657	656
3	140	64	231	189	510	569	607	596
4	78	38	174	115	524	571	537	591
5	109	41	89	92	485	566	581	520

Na Tabela 15, se apresentam os resultados dos ensaios realizados no RAC de 35,7 L e pôde-se observar que a velocidade de remoção das cargas orgânicas mais altas foram no 8^{a+e} e 9^{b+e} com 140.1 e 149.2 mg.L.h⁻¹ coincidindo com as concentrações de 2000 e 3000 mg DQO.L⁻¹.

Tabela 15. Comparação de resultados dos ensaios em RAC 35,7 L

Ensaio	Concentração mg.L ⁻¹	Remoção %	TRH dias	TRH horas	Carga orgânica mg.L.h ⁻¹
1	650	78	10,2	244,8	2,6
2	550	85	10,2	244,8	2,2
3	1.190	70,8	10,2	244,8	4,8
4	2.000	92	10,2	244,8	8,1
5 ^a	3.000	95	2,2	52,8	56,8
5 ^b	3.000	97	1,1	26,4	113,6
6 +e	3.000	96	1,1	26,4	113,6
7 ^a +e	2.000	92	1,1	26,4	75,7
7 ^b +e	3.000	92	1,1	26,4	113,6
8 ^a +e	3.000	83	0,891	21,4	140,1
8 ^b +e	2.000	93	0,891	21,4	93,4
9 ^a +e	2.000	95	0,891	21,4	93,4
9 ^b +e	2.000	75	0,558	13,4	149,2

+e = ensaio com reator externo

O pH foi medido em conjunto com as análises de DQO e se fez uma média por mês, sendo os resultados apresentados na Tabela 16. Observa-se, durante todo o período da pesquisa, o aumento do pH desde o compartimento 1 até o compartimento 5, alcançando valores adequados na faixa de 6,2 e 7 ao sistema anaeróbio, como indicam Pereira, Campos e Moterani, (2009) que deve ser mantido o pH nessa faixa.

Tabela 16. Média de pH no RAC de 35,7 L ao longo do tempo

Mês	Compartimento				
	1	2	3	4	5
Abril 2015	4,23	4,98	5,39	5,4	5,7
Maio 2015	4,88	5,12	5,94	6,12	6,98
Junho 2015	5,21	5,73	6,12	6,65	7,11
Julho 2015	5,01	5,33	6,43	6,87	7,19
Agosto 2015	4,92	5,68	6,81	7,32	7,61
Setembro 2015	4,99	5,47	6,91	7,35	7,56
Outubro 2015	5,05	5,89	6,66	7,21	7,37
Novembro 2015	5,03	6,24	6,71	6,94	7,18
Dezembro 2015	4,35	4,68	5,17	6,06	6,71
Fevereiro 2016	5,53	5,72	6,21	7,03	7,15
Março 2016	5,12	5,99	6,63	7,22	7,29
Abril 2016	5,87	6,13	6,78	7,35	7,40
Maio 2016	5,45	5,87	6,55	689	7,34
Compartimento externo					
Novembro 2015	4,90				
Dezembro 2015	4,90				
Fevereiro 2016	5,13				
Março 2016	5,07				
Abril 2016	5,19				
Maio 2016	5,03				

Os resultados das análises de acidez e alcalinidade são mostradas na Tabela 17, onde os valores de alcalinidade a bicarbonato podem ser considerados baixos (PEREIRA, CAMPOS e MOTERANI, 2009).

Tabela 17. Média de acidez e alcalinidade no RAC de 35,7 L ao longo do tempo

	Compartimento	Alc. À Bicarbonato mg $\text{CaCO}_3\text{L}^{-1}$	Alc. Total mg $\text{CaCO}_3\text{L}^{-1}$	Acidez Volátil mg $\text{CaCO}_3\text{L}^{-1}$
Agosto	1	50	350	660
	2	150	450	960
	3	450	700	1.080
	4	450	600	1.020
	5	450	600	1.020
Setembro	1	250	500	1.380
	2	0	750	1.020
	3	350	600	1.080
	4	350	550	1.140
	5	350	550	1.140
Outubro	1	150	450	960
	2	350	550	1.140
	3	350	550	1.140
	4	350	600	1.080
	5	350	600	1.080
Novembro	1	150	450	960
	2	50	1.000	1.560
	3	50	1.000	1.560
	4	25	350	700
	5	25	350	700
	Externo	25	700	1.800
Dezembro	1	45	750	1.260
	2	50	1.000	1.560
	3	15	500	1.380
	4	5	300	840
	5	25	350	780
	Externo	25	700	1.800
Abril	1	45	875	1.020
	2	45	700	1.020
	3	32.5	575	900
	4	35	600	900
	5	25	575	900
	Externo	55	800	1.230
Maio	1	40	800	960
	2	40	700	990
	3	30	525	810
	4	30	550	780
	5	20	500	900
	Externo	52.5	775	1.170

2.2.5 Conclusões

O tratamento de resíduos de laticínios no reator anaeróbio compartimentado mostrou grandes vantagens tais como: longo tempo de retenção de substrato, baixa produção de lodo e separação das fases acidogênica e metanogênica para o maior controle do processo. No entanto, o acúmulo de ácidos graxos voláteis que captam o lodo levando para a superfície do reator, assim como o pH ácido do soro, interferem em grande medida na eficiência de remoção do processo.

A viabilidade de utilizar um reator RAC de volume em escala maior (35 L) para a remoção de carga orgânica do soro de queijo é satisfatória considerando o volume de soro gerado na produção de queijo. Porém, é de vital importância realizar um controle da entrada de gordura no reator, por exemplo um pre-tratamento do soro de queijo, ou, no caso, um sistema de processos de tratamento de efluentes.

O processo de digestão anaeróbia é relativamente de baixo custo considerando que utiliza o lodo anaeróbio proveniente de um resíduo sanitário, para a eliminação de poluentes como os resíduos de laticínios, pelo que a adição de processo aeróbio não aumenta o custo do tratamento de efluentes com alto valor de poluição, além de diminuir contaminantes de altas concentrações de carga orgânica.

2.3 Referências

APHA (American Public Health Association), **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20th Edition, ed. Clesceri L.S., Greenberg A.E., Eaton A.D.. Washington, DC: American Public Health Association, 1998.

JIMÉNEZ, P., E., L., MOJICA, H., M., L. Estudio de factibilidad de un reactor anaerobio de flujo a pistón a escala de laboratorio, en el tratamiento de las aguas domesticas del municipio de Tunja a una temperatura promedio de 14°C. **Tecnogestión: una mirada al ambiente**. 18(1), 50-75. 2005.

PEREIRA, E., CAMPOS, C., MOTERANI, F. Efeitos do pH, acidez e alcalinidade na microbiota de um reator anaeróbico de manta de lodo (UASB) tratando efluentes de suinocultura. **Ambiente e Agua – An Interdisciplinary Journal of Applied Science**. 4(3), 157–168. 2009.

3 CAPITULO III: Isolamento de fungos produtores de lipase para o tratamento de gordura do soro de queijo

3.1 Introdução

O tratamento com fungos para a remoção de ácidos graxos presentes no soro de queijo tem se convertido em uma área de pesquisa importante, devido à produção de lipases geradas pelos bolores. Para a hidrólise da gordura, foi feita uma prospecção de linhagens fúngicas na superfície do tratamento anaeróbio, efetuando-se um teste preliminar com os bolores isolados, mediante avaliação de atividade lipolítica.

3.2 Objetivos

Obter lipases presentes em fungos isolados de frutas ou provenientes de tratamento anaeróbio de laticínios, para a avaliação de atividade lipolítica no creme de leite.

3.3 Material e métodos

3.3.1 *Micro-organismos*

As amostras provenientes de uma mistura de frutas e do tratamento anaeróbio do primeiro compartimento do RAC de 35,7 L, do laboratório de Bioprocessos da UNESP de São José do Rio Preto, foram inoculadas pela técnica de esgotamento por estrias e incubadas a 25 ° C, por 120 h.

As diferentes colônias de fungos isoladas foram repicadas em tubos contendo meio PDA (Potato Dextrose Agar) e, após um período de incubação de 96 h a 30 ° C, cada colônia foi identificada por um número e três letras. Para o armazenamento, foi utilizada a temperatura de 5 ° C.

3.3.2 *Preparação do extrato enzimático bruto*

O extrato bruto foi preparado através de fermentação em estado sólido, inoculando-se 1 mL de suspensão microbiana em um meio composto por: 5g de farelo de trigo com 50% de umidade previamente esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos, e 1g de creme de leite em frascos Erlenmeyer de 250 mL, por 240h a 30°C. Foram coletadas amostras em intervalos de 48h, adicionando 50 mL de água destilada, agitadas de modo suave por 10 minutos manualmente. O extrato foi filtrado à vácuo e centrifugado a 1144 RFC por 10 minutos, de acordo com Costa (1996).

3.3.3 *Determinação da atividade lipolítica*

Foi medida por um sistema de reação composto por 4 mL de tampão acetato de sódio, com pH 5,6, utilizando como substrato 1g de creme de leite e 1 mL de extrato bruto enzimático.

A mistura foi incubada em frasco Erlenmeyer de 125 mL a 30°C por uma hora com agitação a 130 rpm. Para finalizar a reação, adicionou-se 15 mL de solução de acetona-etanol 1:1 (v/v) e titulou-se contra solução de KOH 0,025 N para a determinação dos ácidos graxos liberados, utilizando-se fenolftaleína como indicador. Foi usada como branco a mistura de reação em tempo zero.

Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima capaz de provocar a liberação de 1 μ mol de ácido graxo por mL de extrato enzimático, nas condições de ensaio.

A atividade enzimática da lipase foi determinada por uma curva padrão de ácido capróico titulado contra KOH 0,025N, como indica Cruz (2001).

3.4 Resultados

3.4.1 Isolamento e seleção de micro-organismos

Foram isoladas 12 linhagens de fungos de uma mistura de frutas e do tratamento anaeróbio de laticínios, que foram testadas quanto à capacidade de hidrolisar os triglicerídeos do creme de leite, através da produção de lipase extracelular. A Tabela 1 indica a atividade dos extratos enzimáticos brutos das linhagens isoladas com relação ao substrato analisado.

Todas as linhagens fúngicas apresentaram atividade lipolítica no substrato avaliado de acordo com a curva padrão de ácido capróico (apêndice 1), mas as linhagens extraídas dos frutos (7GAA, 0ACP, 1GAG, 3GAA, 4AOL, 4GOL) tiveram atividade lipolítica maior que as linhagens extraídas do tratamento anaeróbio.

Os resultados obtidos por Coimbra (2012) apresentaram valores de atividade lipolítica de 2,10 e 2,85 $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ no creme de leite em um período de 120 h. Colla (2009) obteve valores de atividade lipolítica de 3,71 $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ em um período de 144 h do *Aspergillus sp* em óleo de soja. Esses valores são semelhantes às lipases obtidas das linhagens 7GAA e 4GOL para 144 h, 2,63 e 2,90 $\mu\text{mol.mL}^{-1}$, além de resultados superiores terem sido obtidos em 240 h (4,55 $\mu\text{mol.mL}^{-1}$).

Os resultados das linhagens 4AAA, 7GAA, 0ACP, 3GAA, 1GAG e 4GOL indicam uma tendência de crescimento ao longo do tempo que sugerem estudos posteriores, como se mostra na Tabela 18.

Tabela 18. Determinação da atividade lipolítica do extrato bruto em creme de leite

	Amostra	0 h	48 h $\mu\text{mol.mL}^{-1}$	96 h $\mu\text{mol.mL}^{-1}$	144 h $\mu\text{mol.mL}^{-1}$	192 h $\mu\text{mol.mL}^{-1}$	240 h $\mu\text{mol.mL}^{-1}$
RAC	2AAA	0,44	0,71	0,71	0,99	0,71	2,36
	2BAA	0,44	0,71	0,71	0,99	0,99	0,71
	4AAA	0,44	0,44	0,71	0,99	0,99	2,63
	4BAA	0,44	0,44	0,99	0,99	0,71	1,53
	5AAA	0,44	0,44	0,71	1,26	0,71	2,08
	5BAA	0,44	0,71	0,71	0,71	1,53	0,71
FRUTAS	7GAA	0,44	1,26	1,53	2,63	4,00	4,55
	0ACP	0,44	1,54	2,08	2,63	2,90	3,18
	1GAG	0,44	0,99	1,26	2,08	2,90	2,63
	3GAA	0,44	1,26	1,53	2,36	2,90	3,18
	4AOL	0,44	1,26	1,53	2,90	2,63	2,90
	4GOL	0,44	1,53	1,81	2,90	4,00	4,55

Fonte: autoria própria

Os resultados obtidos na Tabela 18 mostram que, em termos de produtividade, as amostras 0ACP e 4GOL apresentam os melhores valores com 0,032 e 0,031 $\mu\text{mol.mL}^{-1}.\text{h}$ respectivamente, presentes durante as primeiras 48 h do processo de produção.

De acordo com Martins, Kalil e Costa (2008) é possível obter uma alta eficiência na produção de lipase a partir de resíduos agroindustriais, porem, os resultados nas amostras neste trabalho, mostram uma maior produção de lipase nas amostras a partir de frutas. A maior produção e ainda com tendência de crescimento apresentou-se em 240 h nas amostras 7GAA e 4GOL com valores de 4,55 $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ em ambas amostras.

Em análises posteriores, verificou-se que a quantidade de lipase foi extremadamente baixa em relação aos testes realizados utilizando creme de leite, pelo que é preferível a aplicação destas enzimas para resíduos com alto teor de gordura e não para resíduos com teor de gordura baixos como os lipídios contidos no soro de queijo.

3.5 Conclusões

As lipases, obtidas nas linhagens de fungos isoladas de frutos, apresentaram resultados mais satisfatórios do que a produção de linhagens provenientes do tratamento anaeróbio de laticínios.

Os resultados mostram que, desde o ponto de vista tecnológico, o rendimento maior se apresenta em 240 h com possibilidades de aumentar a produção de lipase.

A produção de lipase de linhagens provenientes de frutos pode se tornar uma alternativa para diversos usos, como a hidrólise de gorduras para a diminuição de poluentes nas águas residuais e provenientes resíduos de laticínios, que contém altas quantidades de gordura.

3.6 Referências

COIMBRA, M. C., PINTO, T. O. P., D'ARCADIA-CRUZ, V., DE OLIVANETO P. Isolation and selection of lipolytic enzymes-producing fungi. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. 71, 50-55. 2012.

COLLA , L. M. Otimização da produção biotecnológica de lipases e correlação com a produção de biossurfactantes . **Escola de Química e Alimentos**. Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande. 2009.

COSTA, M. C. Produção, purificação e caracterização de lipase de *Aspergillus sp.* Tese de mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1996.

CRUZ, V. A. Produção biotecnológica de metilcetonas por *Aspergillus sp.* e caracterização do processo fermentativo. Tese de mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP, Campinas. 2001.

MARTINS, V. G., KALIL, S. J., COSTA, J. A V. Co-produção de lipase e biossurfactante em estado sólido para utilização em biorremediação de óleos vegetais e hidrocarbonetos. **Química Nova**. 31(8), 1942–1947. 2008.

4 CAPITULO IV: Tolerância ao álcool em lodo anaeróbio

4.1 Introdução

O presente capítulo foi dividido em duas fases, realizando na primeira um teste de tolerância ao álcool no lodo anaeróbio para conhecer a possível efetividade do reator a ser empregado, considerando que em condições anaeróbias a levedura *Kluyveromyces marxianus* produz 0,52 g.g⁻¹ de etanol, utilizando como substrato lactose (MURARI, 2017). A segunda fase consistiu no teste de um reator aeróbio-anaeróbio compartimentado (RAAC) para o tratamento da carga orgânica do soro de queijo, formado por quatro compartimentos e dividindo o segundo compartimento por um filtro biológico para evitar a mistura da levedura com o lodo anaeróbio pelo arraste. O primeiro compartimento trabalhou em fase aeróbia com *K. marxianus* para evitar a formação de álcool e propiciar a remoção de DQO presente no soro.

4.2 Objetivos

Verificar a possibilidade de contato do etanol no lodo anaeróbio com o álcool produzido pela levedura.

4.3 Material e métodos

4.3.1 Teste de tolerância ao álcool em lodo anaeróbio

Realizou-se um teste de tolerância do lodo anaeróbio ao álcool, utilizando 300 mL de soro de leite com uma concentração de 1 g.L⁻¹ e 20% de lodo anaeróbio do volume do soro, adicionando: ensaio 1: 0% de álcool; ensaio 2: 0,5%; ensaio 3: 1,0%.

Os três ensaios foram realizados em garrafas PET de 500 mL completamente fechadas. Realizou-se a análise de DQO para a verificação de consumo de substrato nos seguintes tempos: 24, 72, 96 e 120h.

4.4 Resultados

4.4.1 Resultados nos ensaios de tolerância de lodo anaeróbio ao álcool

Os resultados da tolerância de lodo ao álcool apresentam-se na Tabela 19. O Ensaio 1 conteve 0% de álcool para ser considerada a amostra padrão. Devido ao incremento de DQO e a diminuição da eficiência nos ensaios, os resultados revelam a incapacidade do lodo anaeróbio para o tratamento de um produto com conteúdo alcoólico baixo, como pode ser uma fermentação de soro de queijo.

Tabela 19. Ensaios de tolerância de lodo anaeróbio ao álcool em diferentes concentrações

DQO (mg.L ⁻¹)			
Tempo	Ensaio 1 0% álcool	Ensaio 2 0.5 % álcool	Ensaio 3 1% álcool
0 horas	699	4,610	7,240
24 horas	613	4,610	7,240
72 horas	410	4,530	9,940
96 horas	254	4,300	7,200
120 horas	115	4,000	6,500
% Eficiência	83,5	13,2	10,2

Os resultados de álcool são contundentes em relação a tolerância da manta do lodo ao etanol com concentrações maiores a 0,5 %. Weber (2012) realizou o tratamento de efluentes de destilaria (vinhaça), obtendo eficiências de até 81%, para vinhaça com concentrações menores a 0,07% de etanol. Ou seja, a digestão anaeróbia suporta apenas efluentes com teores alcoólicos extremadamente baixos, além de ter um lodo aclimatado para o substrato alcoólico.

4.5 Conclusões

De acordo com os resultados, dependendo do teor de etanol no efluente, o sistema de digestão anaeróbia ficará seriamente comprometido, necessitando recuperar o álcool antes da entrada deste no sistema.

4.6 Referências

MURARI, C. S. Isolamento, seleção e aplicação de leveduras não convencionais para produção de bioetanol a partir do soro de queijo. Tese de doutorado, IBILCE-UNESP. 2017.

WEBER, D. P. Aplicação de um reator anaeróbio de alta eficiência para o tratamento de efluentes de uma microdestilaria de álcool. Universidade Federal de Santa Maria centro. 2012.

5 Capítulo V: Tratamento de soro de queijo com levedura
***Kluyveromyces marxianus* em um reator aeróbio -**
anaeróbio compartimentado

5.1 Introdução

Para o desenvolvimento do processo híbrido, trabalhou-se com um reator aeróbio-anaeróbio compartimentado – RAAC, para a obtenção de um processo contínuo com o tratamento do soro de queijo em sistema aeróbio no primeiro compartimento para evitar a produção de etanol, e imediatamente depois entrar no segundo compartimento, onde se colocou um filtro biológico de pedra, para a retenção da levedura, entrando o soro tratado e filtrado para o contato com o lodo anaeróbio, passando por mais dois compartimentos em fluxo ascendente com lodo anaeróbio, os quais ficaram completamente fechados.

5.2 Objetivo

Analizar o tratamento de soro queijo em um reator RAAC, para avaliar a capacidade de carga orgânica do lodo anaeróbio em conjunto com a aerobiose da *Kluyveromyces marxianus*.

5.3 Material e métodos

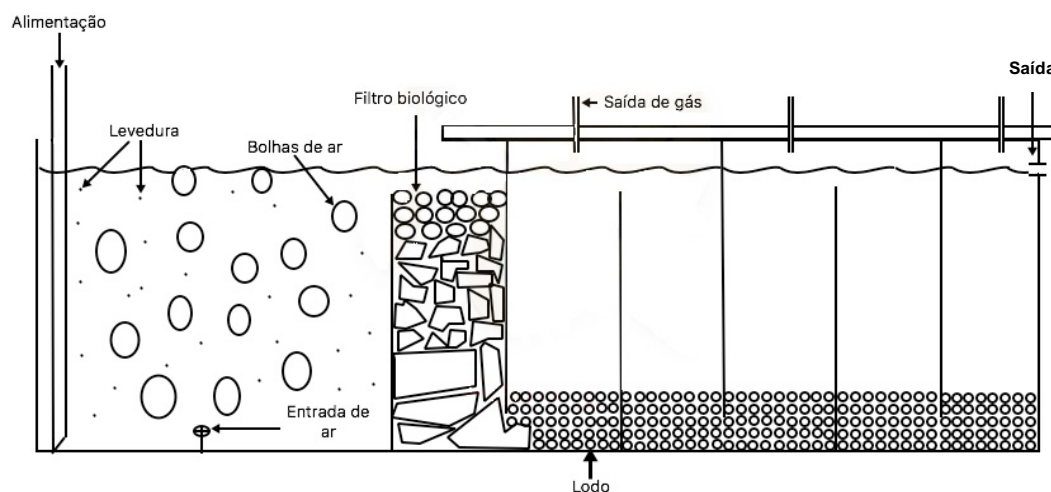
5.3.1 Processo aeróbio

Na Figura 2 se apresenta o RAAC, com volume total de 4 L tendo cada compartimento 1 L de capacidade. Foi utilizada a levedura *Kluyveromyces marxianus* CCT 4086, utilizando PDA para sua manutenção e para o pre-inóculo meio sintético a base de: lactose 3%, extrato de levedura 1%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1%, MgSO_4 0.1%, CaCl_2 0.2%. O substrato utilizado para o processo aeróbio foi soro de queijo tipo ricota.

5.3.2 Processo anaeróbio

Os compartimentos em fase anaeróbia foram inoculados com 20% de lodo anaeróbio previamente aclimatado em cada um dos compartimentos. O processo foi mantido a uma temperatura oscilatória de 25-30° C.

Figura 2. Reator aeróbio-anaeróbio compartimentado – RAAC



Para a partida do reator, foram feitos sete ensaios em diferentes concentrações de substrato, TRH, duração de período do ensaio e pH, apresentados na Tabela 20.

Tabela 20. Condições dos ensaios preliminares no RAAC

Ensaio	1	2	3	4	5	6	7
S_0 (mg DQO.L ⁻¹)	25.700	3.000	7.900	687	3.025	6.500	9.000
TRH (dias)	4	4	4	8	8	8	8
Período (dias)	4	4	6	21	12	8	16
pH	*S/C	*S/C	*S/C	**C/E	**C/E	*C/E	*C/E

*S/C = sem corrigir

** C/E = correção na entrada a pH7

5.3.3 Meio de cultura para crescimento de *Kluyveromyces maxianus*

Foram selecionados dois meios de cultivo padrão para o crescimento da levedura: o meio PDA (Potato Dextrose Ágar) e um meio sintético com lactose 3%, extrato de levedura 1%, (NH₄)₂SO₄ 0,1%, (NH₄)₂SO₄ 0,1%, MgSO₄ 0,1%, CaCl₂ 0,2% (MURARI, 2017) para o pre-inóculo de levedura.

5.3.4 Água residuária

Como matéria-prima para o tratamento de efluentes, foi utilizado soro de queijo doce proveniente da produção de queijo tipo ricota, da marca “El primo”.

5.3.5 Micro-organismos

Para o início do tratamento do soro de queijo, foi utilizada a levedura *Kluyveromyces marxianus* CCT 4086 isolada por Murari (2017), repicada no meio PDA a 30° C, 24 horas, em tubo inclinados. Posteriormente os tubos foram armazenados em refrigeração a 5 °C.

5.4 Resultados

5.4.1 Resultados de ensaios e RAAC

O resultado do primeiro ensaio, com $S_0 = 25.700 \text{ mg DQO.L}^{-1}$, teve uma remoção no compartimento aeróbio de 17% e 86,3% na fase anaeróbia.

Na Tabela 4 se apresentam os resultados de ensaios com três concentrações diferentes. Iniciou-se com uma concentração alta de substrato, porém a levedura mostrou-se ainda não adaptada ao sistema. Por isso, a concentração foi diminuída para $3.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$.

Foi verificado que: em relação ao compartimento aeróbio, o sistema começou a mostrar uma certa eficiência (60%) somente no 14º dia; para os compartimentos anaeróbios, o sistema manteve-se inoperante, o que resultou em uma posterior troca de lodo. É importante sinalizar que os resultados mostrados na Tabela 21 se encontram em conexão com o valor anterior a eles. Os valores das eficiências no ensaio 2 e parte do 3 indicam a eficiência negativa do processo durante esses períodos, começando a estabilizar o reator a partir do ensaio 3.

Tabela 21. DQO do RAAC, substrato inicial: 25.700, 3.000 e 7.900 mg DQO.L⁻¹

	Ensaio 1	Ensaio 2		Ensaio 3		
mg DQO.L ⁻¹	Dia 4	Dia 6	Dia 8	Dia 10	Dia 12	Dia 14
Concentração inicial	25.700	3.000	3.000	7.900	7.900	7.900
Compartimento 1 (Aeróbio)	21.200	27.300	5.200	8.400	4.400	3.100
Filtro biológico	23.000	27.250	7.400	9.100	4.500	3.680
Compartimento 2	27.500	26.300	8.000	9.700	4.400	3.800
Compartimento 3	16.400	25.800	7.400	12.100	4.300	4.100
Compartimento 4	3.500	14.800	12.400	15.000	5.100	4.300
% Eficiência	86,3	- 393,3	-313,3	-89,8	35,4	45,5

O comportamento do pH se mostra na Tabela 22, com valores entre 4,9 e 5,1 em quase todas as corridas no compartimento aeróbio o qual se encontra na faixa para a fermentação com *Kluyveromyces marxianus*, de acordo com Murari (2017). No filtro biológico se manteve na faixa similar ao compartimento 1 e no compartimento 2, onde deveria ocorrer a fase acidogênica, o pH se manteve em torno de 5, elevando-se a 6,5 no dia 13.

Este pH é considerado baixo para o processo anaeróbio, segundo Pereira; Campos; Moterani (2009), pelo que o reator se manteve inativo por causa do pH baixo assim como do choque das altas concentrações de substrato testadas, corroborando as eficiências do ensaio 3 onde o pH foi corrigido e mantido, para tentar manter a fase metanogênica ativa.

Tabela 22. pH do RAAC, $S_0 = 25.700, 3.000$ e $7.900 \text{ mg DQO.L}^{-1}$

	Ensaio 1	Ensaio 2		Ensaio 3		
Compartimento 1 (Aeróbio)	4,9	4,9	5,1	5,5	5,0	6,8
Filtro Biológico	4,9	4,9	5,2	5,7	5,1	6,9
Compartimento 2	5,0	4,8	5,4	6,8	5,8	9,7
Compartimento 3	5,3	5,1	6,8	7,4	7,0	7,9
Compartimento 4	6,9	5,1	6,3	7,8	7,0	7,6

Na Tabela 23, constam os resultados do ensaio 4 com uma concentração inicial de $687 \text{ mg DQO.L}^{-1}$. Os valores elevados observados ao longo dos compartimentos devem-se à concentração de soro residual. Observa-se que, a partir do 14º dia, o reator aeróbio começa a mostrar eficiência de 79% de remoção. Os compartimentos anaeróbios continuaram mostrando comportamento de não estabilizados, embora, do dia 7 ao dia 21, verifica-se a redução da carga orgânica ao longo do tempo em cada compartimento. Observa-se que a posição dos resultados são reflexo do seu anterior próximo, no caso da coluna 4 por exemplo, inicia com $687 \text{ mg DQO.L}^{-1}$ seguido de 760, 345, 165 e 160 mg DQO.L^{-1} e assim sucessivamente nas outras colunas.

Tabela 23. DQO do RAAC, $S_0 = 687 \text{ mg DQO.L}^{-1}$

Ensaio 4								
mg.L⁻¹	Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 7	Dia 10	Dia 14	Dia 17	Dia 21
DQO Inicial	687	687	687	687	687	687	687	687
Compartimento 1 (Aeróbio)	6.100	7.600	3.200	380	760	138	129	89
Filtro Biológico	--	--	--	470	370	345	146	56
Compartimento 2	--	--	--	--	1.740	381	165	91
Compartimento 3	--	--	--	--	2.000	415	209	160
Compartimento 4	--	--	--	--	--	890	430	184
% Eficiência	0,0	0,0	0,0	31,5	0,0	0,0	37,4	73,2

Foi feita a correção para pH 7 diretamente no soro, antes da entrada no reator, sendo que a faixa entre 7,0 – 7,8 foi mantida durante todo o período, como o indica ao processo anaeróbio Pereira, Campos e Moterani, (2009) (Tabela 24). Interessante notar a ação da levedura, mesmo em um pH considerado não adequado ao seu desenvolvimento.

Tabela 24. pH do RAAC, $S_0 = 687 \text{ mg DQO.L}^{-1}$

	Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 7	Dia 10	Dia 14	Dia 17	Dia 21
Compartimento 1 (Aeróbio)	7,0	7,1	7,4	7,7	7,7	7,6	7,7	7,8
Filtro Biológico				7,5	7,4	7,5	7,5	7,6
Compartimento 2				7,5	7,4	7,4	7,3	7,0
Compartimento 3					7,9	7,7	7,4	7,0
Compartimento 4						7,8	7,7	7,5

Na Tabela 25, se mostram os resultados do ensaio 5, com uma concentração de soro na entrada de $3.025 \text{ mg DQO.L}^{-1}$, com remoções na faixa de 95,2% e 96,1% no compartimento aeróbio. Já na seção anaeróbia, não houve remoção, observando-se que o compartimento aeróbio consumia todo o substrato deixando irrisórias para os compartimentos anaeróbios.

Tabela 25. DQO do RAAC, substrato inicial: $3.025 \text{ mg DQO.L}^{-1}$

Ensaio 5				
mg DQO.L ⁻¹	Dia 2	Dia 5	Dia 9	Dia 12
S_0	3.025	3.025	3.025	3.025
Compartimento 1 (Aeróbio)	143	119	127	117
Filtro biológico	158	121	122	141
Compartimento 2	107	118	72	128
Compartimento 3	164	126	114	98
Compartimento 4	161	126	126	93
% Eficiência	94,6	95,8	95,8	96,9

O comportamento do pH do RAAC no ensaio 5 é apresentado na Tabela 26. Se manteve na faixa de pH 7,0 e 7,7 no compartimento aeróbio. Nos compartimentos anaeróbios, o pH variou entre 6,4 e 7,9, o que demonstra ter havido atividade microbiana, devido a que o reator estava em recuperação.

Tabela 26. pH do RAAC, substrato inicial: 3.025 mg DQO.L⁻¹

	Dia 2	Dia 5	Dia 9	Dia 12
Compartimento 1 (Aeróbio)	7,7	7,4	7,7	7,0
Filtro Biológico	7,5	7,6	7,3	6,8
Compartimento 2	7,2	7,3	6,6	6,4
Compartimento 3	7,1	7,2	6,7	6,6
Compartimento 4	7,3	7,5	7,9	7,0

Para alimentação de 6.500 mg DQO.L⁻¹ (Tabela 27), os valores de remoção na fase aeróbia alcançou 85% no oitavo dia. A fase anaeróbia começou a demonstrar eficiência, obtendo em média, 90% de redução. No total, o sistema apresentou uma remoção de 98%, na saída do reator.

Tabela 27. DQO RAAC $S_0 = 6.500$ mg DQO.L⁻¹

Ensaio 6		
mg DQO.L⁻¹	Dia 4	Dia 8
S_0	6.500	6.500
Compartimento 1 (Aeróbio)	2.410	980
Filtro biológico	1.276	651
Compartimento 2	431	219
Compartimento 3	167	141
Compartimento 4	126	101
% Eficiência	98,0	98,4

A Tabela 28 apresenta os resultados de pH do ensaio 6, no qual não foi realizada correção. O compartimento aeróbio apresenta valores compatíveis com os apropriados para a levedura e, ao longo dos compartimentos anaeróbios, o pH foi também alcançando valores apropriados tanto para a fase acidogênica como para a metanogênica.

Tabela 28. pH de RAAC, $S_0 = 6.500 \text{ mg DQO.L}^{-1}$

	Dia 4	Dia 8
Compartimento 1 (Aeróbio)	5,8	5,3
Filtro Biológico	6,0	5,1
Compartimento 2	6,4	6,4
Compartimento 3	6,6	6,6
Compartimento 4	7,5	7,5

Os resultados do ensaio 7, com $S_0 =$ de $9.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$, aparecem na Tabela 29, onde os valores de DQO mostram um RAAC estabilizado tanto na fase aeróbia como na anaeróbia, obtendo uma remoção no compartimento aeróbio de 43% e uma remoção total acima de 92,3% durante todo o ensaio na saída do reator.

Tabela 29. DQO de RAAC, $S_0 = 9,000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$

Ensaio 7				
mg DQO.L⁻¹	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16
S_0	9000	9000	9000	9000
Compartimento 1(Aeróbio)	5090	6260	5610	5100
Filtro biológico	5110	5910	2650	2710
Compartimento 2	2250	1377	2770	2790
Compartimento 3	633	719	327	337
Compartimento 4	123	685	271	273
% Eficiência	98,6	92,3	96,9	96,9

No entanto, o pH, além de não ter sido corrigido durante todo o período de 16 dias, se manteve baixo no compartimento com levedura, nos oito primeiros dias. Isso pode indicar um período de adaptação para as leveduras pois, com o mesmo pH de entrada, a partir do 12º dia, o pH chega perto da neutralidade.

Os valores de pH refletem no filtro biológico e no compartimento 2, embora, mesmo com um pH não adequado, foi observada uma relativa queda de DQO na fase acidogênica (que deve estar representada neste compartimento). Os compartimentos 3 e 4 apresentaram pH adequado em todo o período (Tabela 30).

É importante sinalizar que, em pH abaixo de 6,2, a produção de metano se encerra, acumulando ácidos, conseqüentemente, ocorre a paralisação do sistema (QASIM, 1999). Assim como cabe a possibilidade de que a levedura continuasse ativa nos compartimentos anaeróbios, de acordo com os resultados de pH obtidos no período dia 4 e 8 períodos.

Tabela 30. pH de RAAC, $S_0 = 9,000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$

	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16
Compartimento 1 (Aeróbio)	4,2	3,8	6,5	6,2
Filtro Biológico	4,0	3,7	6,0	6,2
Compartimento 2	4,2	4,0	6,6	6,7
Compartimento 3	6,3	4,2	6,5	6,7
Compartimento 4	6,8	6,1	6,7	6,7

Os resultados obtidos no RAAC foram altamente satisfatórios para as concentrações de 6,500 e 9000 mg DQO.L⁻¹ com eficiências totais acima de 95% que foram as concentrações mais altas testada.

O filtro biológico não conseguiu reter a levedura pois no compartimento 2 era visível a presença da levedura assim como nos resultados de DQO os quais mostravam um incremento na DQO no ensaio 1, 2, 3, 4 e 7, e uma concentração similar entre o filtro e o compartimento 2 no ensaio 5 e 6.

Os incrementos de carga orgânica em alguns ensaios puderam se atribuir ao arraste da biomassa que não se conseguiu reter no filtro biológico, assim como o reator possa ter perdido eficiência por não ter se dado o tempo de recuperação do lodo em relação à carga orgânica do ensaio 1, o qual foi realizado 20 dias após deste ensaio, pouco mais que 2 TRH até o ensaio 4 com TRH de 8 dias.

O choque de concentrações do ensaio 1 e 2 foi marcante para o resto dos ensaios pois a adaptação do lodo ao efluente leva um período de aproximadamente um mês, dependendo do tipo de efluente, o qual, de acordo com Schalch (2016), a ativação e a climatização do lodo anaeróbio pode ser de 10 até 30 dias. Considerando que o pH ideal para a fermentação assim como para aerobiose da *Kluyveromyces marxianus* é de 5, este tinha que se manter corrigindo em todos os compartimentos do RAAC em pH 7, para não interferir na eficiência da fase anaeróbia.

5.5 Conclusões

Os resultados altamente satisfatórios para 6.500 e 9.000 mg DQO.L⁻¹ com eficiências totais acima de 95%. O filtro biológico foi ineficiente, o que ocasionou os incrementos de DQO pelo arraste da biomassa. O pouco tempo de recuperação do lodo em relação à concentração inicial do ensaio 1 afetou os resultados da eficiência em os primeiros três testes.

5.6 Referências

MURARI, C. S. Isolamento, seleção e aplicação de leveduras não convencionais para produção de bioetanol a partir do soro de queijo. Tese de doutorado, IBILCE-UNESP. 2017.

PEREIRA, E., CAMPOS, C., MOTERANI, F. Efeitos do pH, acidez e alcalinidade na microbiota de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) tratando efluentes de suinocultura. **Ambiente e Agua – An Interdisciplinary Journal of Applied Science**. 4(3), 157–168. 2009.

QASIM, S.R. **Waster treatment plants – planning, desing and operation**. 2a. Ed. New York: CRC Press LLC, 1126. 1999.

SCHALCH, M. S. B. Ativação e aclimação de lodos anaeróbios para a inoculação de biometanizadores visando o tratamento da fração orgânica dos resíduos urbanos. 2016.

6 CAPÍTULO VI: Tratamento de soro de queijo em um sistema integrado com levedura em um reator de coluna de bolhas, sedimentador e reator anaeróbio compartimentado (RAC)

6.1 Introdução

Devido à geração de levedura *Kluyveromyces marxianus* durante o processo de aerobiose no tratamento de soro de queijo, optou-se por um sistema separado (aeróbio e anaeróbio) para evitar possibilidade de contato da levedura dentro do reator anaeróbio. Utilizou-se um processo de batelada alimentada na aerobiose para a geração de levedura (que pode ser utilizada em uma possível produção de extrato de levedura), mantendo as condições aeróbias para evitar a geração de álcool e manter o foco na remoção da matéria orgânica. O sistema concomitante usado foi construído por um reator de coluna de bolhas e um reator anaeróbio compartimentado (RAC), tendo um sedimentador entre os dois reatores para evitar ou diminuir a introdução de levedura no RAC.

6.2 Objetivo

Avaliar um sistema concomitante utilizando um reator aeróbio para o tratamento do soro de queijo com a levedura *Kluyveromyces marxianus* seguido da sedimentação da levedura em um sedimentador para o ingresso do sobrenadante em um RAC.

6.3 Material e métodos

6.3.1 Reator de bolhas

Instalou-se um reator de coluna de bolhas com fluxo ascendente (Figura 3^a) com volume total de 3,8 L para o tratamento com *Kluyveromyces marxianus*, onde o TRH inicial foi de 24 horas.

A Tabela 31 apresenta as condições usadas nos ensaios preliminares, para a verificação do funcionamento do reator em cada ensaio.

Tabela 31. Condições de ensaios preliminares em reator de coluna de bolhas, sedimentador e RAC em alimentação contínua

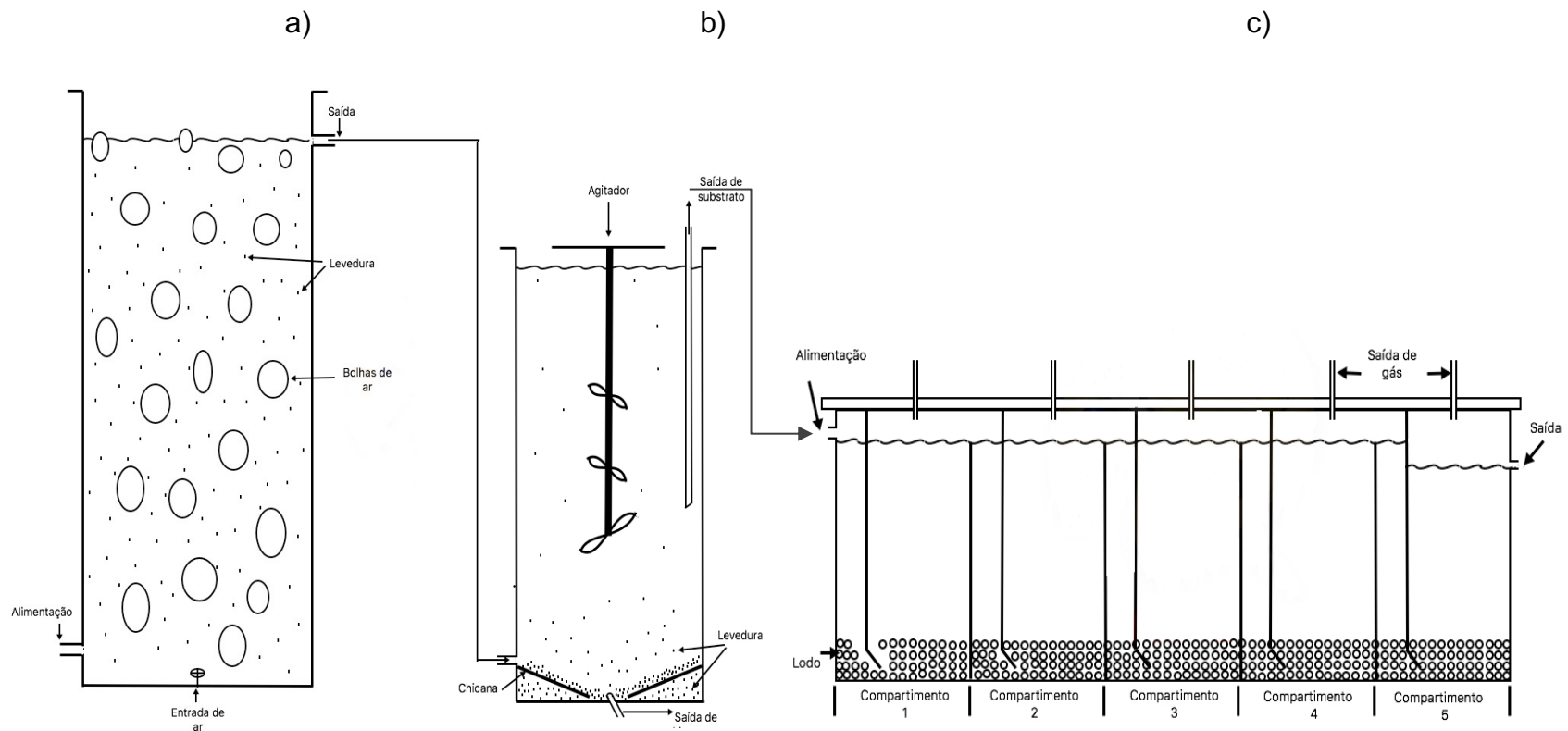
Fase	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3
S_0 (mg DQO.L ⁻¹)	1.200	3.000	6.000
TRH em reator de bolhas (dias)	1	1	1
TRH em sedimentador (dias)	1	1	1
TRH no RAC (dias)	5	5	5
Período total do experimento (dias)	12	12	20
pH	6,5	6,5	6,5

6.3.2 Sedimentação de levedura

Após período de 24 horas no reator de coluna de bolhas, o soro de queijo foi direcionado para um sedimentador (Figura 3^b) com volume de 2 L e, na parte superior, um agitador tipo Rushton com velocidade fixa de 3 rpm. O TRH no sedimentador foi de 24 h, adicionando-se Ca(OH)₂ para elevar até pH 9, visando acelerar a precipitação da biomassa presente no substrato, e usando o agitador para homogeneizar o meio.

A saída do efluente foi pela metade inferior do sedimentador tal como se mostra na Figura 3^b, entrando em fluxo contínuo ao RAC de 5 L (Figura 3^c), com uma vazão de alimentação de 1 L.dia⁻¹ e TRH de 5 dias.

Figura 3. Reator de coluna de bolhas^a, sedimentador^b, reator anaeróbio compartimentado - RAC^c



6.4 Resultados

6.4.1 Sistema integrado por reator de coluna de bolhas, sedimentador e RAC de 5 L

Os resultados do processo com *Kluyveromyces marxianus*, com alimentação em batelada em um reator de coluna de bolhas com vazão de 1 L.dia⁻¹ com conexão ao sedimentador com TRH de 24 h, são mostrados na Tabela 32, junto com os resultados da remoção de DQO no RAC ligado em alimentação contínua ao sedimentador, com TRH de 24 h em cada compartimento.

No ensaio 1, com concentração inicial de 1200 mg DQO.L⁻¹ de soro, a levedura apresentou uma eficiência de 35% de remoção e 23% de remoção no RAC, sendo esta última a mais baixa obtida nos três ensaios. A remoção total do sistema alcançou 52%.

Para o ensaio 2, a remoção no reator de bolhas foi de 63% e 59% e de 2,2 % e 41,2% de eficiência no RAC. As eficiências baixas no RAC podem se dever à falta de aclimatização do lodo e ao incremento da concentração de soro de queijo. O sistema total apresentou uma eficiência de 78%.

Já no ensaio 3, se observa uma remoção similar no reator de bolhas de 34% a 37%, que é similar com a remoção no ensaio 1, além de apresentar 24% e posteriormente 17% de remoção durante a precipitação da levedura. As eficiências de remoção no RAC foram de 76% a 80%, nessa ordem, sendo as mais altas dos três ensaios assim como também no sistema completo que obteve 88% a 90% de remoção.

O resultado nesse ensaio indica o aumento da concentração inicial de soro de queijo no reator de bolhas, já que tais eficiências podem se manter até em 68% com concentrações de até 36.000 mg DQO.L⁻¹ de acordo com Murari (2017) que trabalhou com a aerobiose da *Kluyveromyces marxianus* com soro de queijo.

Tabela 32. Resultado de DQO do ensaio 1, 2 e 3 em alimentação continua do reator de bolhas, sedimentador e RAC de 5 L

	DQO (mg.L ⁻¹)							
	Ensaio 1		Ensaio 2		Ensaio 3			
Entrada reator de bolhas	1.200	1.200	3.000	3.000	6.000	6.000	6.000	6.000
Saída reator de Bolhas (24 horas)	780	790	1.100	1.210	3.940	3.940	3.780	3.780
% Eficiência reator de bolhas	35,0	34,1	63,3	59,6	34,3	34,3	37,0	37,0
Saída sedimentador (24 h)	750	750	657	1.095	2.980	2.980	3.120	3.120
% Eficiência sedimentador	3,8	5,0	40,2	9,5	24,3	24,3	17,4	17,4
RAC C1	638	639	1,095	1,157	1,580	1,560	4,480	4,470
RAC C2	623	627	655	659	1,167	1,142	808	799
RAC C3	575	593	665	673	684	681	813	811
RAC C4	567	567	631	637	665	654	812	811
RAC C5	572	579	642	643	611	604	716	703
% Eficiência RAC	23,7	22,8	2,2	41,2	76,4	76,7	80,6	77,4
% Eficiência total média	52,3	51,7	78,6	78,5	89,8	89,9	88	88,2

Os resultados de pH dos 3 ensaios do sedimentador em alimentação continua ao RAC são mostrados na Tabela 33, com pH muito alcalino para a faixa do processo de digestão no ensaio 1 durante a fase acidogênica, e que ao longo do tempo foi diminuindo. Para o ensaio 2, o pH foi se estabilizando na fase acidogênica, para chegar em níveis adequados no ensaio 3, mantendo-se estável.

Tabela 33. Resultado de pH do ensaio 1, 2 e 3 em alimentação continua do sedimentador ao RAC de 5 L

Compartimento	Ensaio 1		Ensaio 2			Ensaio 3		
1	9,2	9,2	6,6	6,4	6,4	6,4	6,7	6,4
2	9,2	9,0	7,9	7,6	6,9	6,7	7,0	7,0
3	8,6	8,5	8,2	8,0	7,4	7,1	7,0	7,0
4	8,0	8,1	8,0	7,8	7,7	7,5	7,2	7,1
5	7,8	8,3	8,7	8,4	8,4	8,2	8,3	8,0
pH	**C/E		*S/C			*S/C		

*S/C = sem corrigir

** C/E = correção na entrada a pH 10

De acordo com os resultados obtidos nas eficiências, o sistema tem uma remoção total satisfatória de até 89,9% com concentração de 6.000 mg DQO.L⁻¹, o que indica a possibilidade do incremento na concentração inicial no reator de bolhas. Referente ao pH, só foi preciso corrigir no inicio do sistema para realizar a aclimatização da levedura assim como do lodo. Mesmo com o cálculo de eficiência de remoção do sedimentador obtendo resultados baixos de até um máximo 5% no ensaio 1, é importante manter este sedimentador, pois a função principal dele é impedir a introdução de levedura no RAC e evitar uma competição por substrato no sistema.

6.5 Conclusões

A eficiência de remoção do sedimentador obteve um máximo de 5% no ensaio 1. É importante manter o sedimentador, pois a função principal dele é impedir a introdução de levedura no RAC.

6.6 Referências

MURARI, C. S. Isolamento, seleção e aplicação de leveduras não convencionais para produção de bioetanol a partir do soro de queijo. Tese de doutorado, IBILCE-UNESP. 2017.

**7 CAPITULO VII: Tratamento de soro de queijo em um
sistema concomitante de um fermentador e um reator
anaeróbio compartimentado - RAC**

7.1 Introdução

Os sistemas empregados para o tratamento de efluentes são utilizados separadamente dependendo do tipo de resíduo a tratar, já que este dependerá do tipo de tratamento físico, químico ou biológico escolhido. A implementação de um sistema integrado por uma variedade de métodos pode ter uma boa eficiência, assim com geração de mais de um subproduto seja energético ou qualquer outro reutilizável. Os tratamentos com micro-organismos (leveduras, fungos ou bactérias) são altamente utilizados na área farmacêutica, alimentícia, bioenergética: bioetanol, biodiesel e biogás. O tratamento de efluentes em sistemas anaeróbios vem sendo utilizado nas últimas décadas devido aos grandes volumes de efluentes que pode chegar a tratar, além do baixo custo de produção e a grande quantidade de biogás que produz. No entanto, os valores das concentrações acima de 10.000 mg DQO.L⁻¹ limita o processo de digestão, que abre a possibilidade de utilização de métodos alternativos ou pre-tratamentos nos resíduos para ter uma maior eficiência do processo anaeróbio.

7.2 Objetivo

Avaliar a capacidade de remoção de carga orgânica do soro de queijo em um sistema concomitante constituído por fermentação em frascos Erlenmeyer da *Kluyveromyces marxianus* e a destilação do álcool produzido, seguido da sedimentação de levedura para o ingresso do sobrenadante em um reator anaeróbio compartimentado.

7.3 Material e métodos

7.3.1 Preparação de inóculo

Utilizou-se a levedura *Kluyveromyces marxianus* em meio sintético: lactose 3%, extrato de levedura 1%, (NH₄)₂SO₄ 0.1%, KH₂PO₄ 0.1%, MgSO₄ 0.1%, CaCl₂ 0.2% (MURARI, 2017), em frascos Erlenmeyer de 250

mL previamente esterilizados, em agitação circular a 130 rpm e temperatura controlada de 33 ° C.

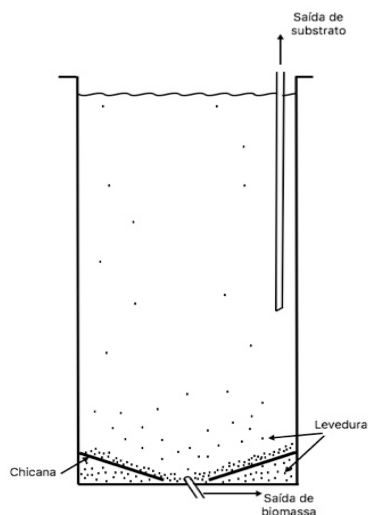
7.3.2 *Fermentação de soro de queijo*

Como substrato, foi utilizado o soro de queijo tipo ricota reconstituído, em diluições de 2 L a temperatura de 33 ° C, durante 24h. As diferentes concentrações estão apresentadas nas Tabelas 35 e 36, em processo de batelada alimentada, realizadas em Erlenmeyer de 3 L. Passadas as 24 h de fermentação, foi extraída a levedura do fundo do Erlenmeyer com uma pipeta de 50 mL para ser utilizada como inóculo em uma nova fermentação. O líquido sobrenadante foi levado a aquecimento para a evaporação do álcool produzido e posteriormente se reestabelecia o volume inicial com água destilada para evitar a concentração do substrato.

7.3.3 *Sedimentação da levedura*

O líquido tratado termicamente foi colocado em um sedimentador vertical (Figura 4), com tempo de retenção de 2h.

Figura 4. Sedimentador vertical



7.3.4 Tratamento em RAC

A saída do sobrenadante foi adaptada na metade do sedimentador, permitindo o fluxo do soro com a menor quantidade de células de *Kluyveromyces marxianus*, a qual foi comunicada com a entrada do RAC com ajuda de uma bomba peristáltica. O RAC (Figura 3) de volume total de 5 L e entrada de fluxo ascendente se encontra dividido em cinco compartimentos (C1, C2, C3, C4, C5) cada um com 20% de lodo anaeróbio. A retirada da amostra foi realizada na parte média superior da parede de cada compartimento. Para a correção do pH foi utilizado NaHCO_3 1N e NaOH 3N.

7.3.5 Caracterização físico-química de soro de queijo

Foram avaliadas as seguintes características físico-químicas: pH, acidez e alcalinidade, demanda química de oxigênio (DQO), feitas segundo Standard Methods (2005) e açúcares redutores, proteínas e gordura (Tabela 34).

Tabela 34. Métodos Analíticos

Análise	Norma ou método
Lactose	DNS, (MILLER, 1959)
DQO	Método Hach (APHA, 5220 D)
Proteínas	Kjeldahl
Gordura	Método de Gerber, Bligh Dyer
pH	peagmetro

A análise de DNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico) (MILLER, 1959) foi realizada para determinar o consumo de carboidrato no soro de queijo. A técnica constituiu em pegar 1,0 mL da amostra e adicionar 0,5 mL de solução de DNS nos tubos de ensaio, que foram fervidos durante 5 minutos.

A amostra foi resfriada e em seguida foram adicionados 8,5 mL de água destilada. Simultaneamente foi feita uma curva de calibração com diferentes concentrações de lactose (Apêndice 2). A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 540 nm.

Cálculo do consumo de carboidratos:

$$\% \text{ consumo de lactose} = \frac{(S_t - S_f) * 100}{S_t} (\%) \quad (1)$$

Onde:

S_f = concentração substrato final (g.L⁻¹)

S_t = concentração substrato total (g.L⁻¹)

O teor de gordura determinou-se através do método de Gerber, que consiste na quebra da emulsão do soro de queijo através da centrifugação após digestão do material proteico com ácido sulfúrico (P.A.) e álcool isoamílico concentrado. A leitura do percentual de gordura é realizada de forma direta na escala do butirômetro de Gerber (IAL, 2008).

Considerando a escala do butirômetro e o teor de gordura do soro de queijo de 0,5% de acordo Texeira e Fonseca (2008), realizou-se o método de Bligh Dyer que consiste na extração de todas as classes de lipídios e não unicamente os compostos neutros.

A determinação de proteínas foi feita pelo método de Kjeldahl (teor de nitrogênio total), que consiste na digestão da amostra por via úmida, liberação de amônia por adição de hidróxido de sódio e titulação da amônia por via direta ou indireta. A correção do pH foi realizada com adição de NaHCO₃ 1N e NaOH 1N.

7.3.6 Condições dos ensaios

Na Tabela 35, se descrevem as condições dos ensaios para o tratamento de soro de queijo com a fermentação com *Kluyveromyces marxianus* e com lodo anaeróbio em um RAC de cinco compartimentos, e na Tabela 36 as condições dos ensaios utilizando um RAC de quatro compartimentos.

Tabela 35. Condições de ensaios em sistema concomitante: fermentador, sedimentador e RAC de 5 compartimentos em alimentação continua

Fase	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4
S_0 (mg DQO.L ⁻¹)	28.100	32.000	36.000	24.000
TRH fermentador (horas)	24	24	24	24
TRH sedimentador (horas)	2	2	2	2
TRH no RAC (dias)	1,67	1,67	1	1

Do mesmo jeito a Tabela 36 apresenta as condições de dois ensaios, excluindo do sistema o sedimentador e utilizando um RAC de quatro compartimentos. É importante mencionar que todas as amostras dos seis ensaios foram aquecidas a 60 °C por 30 min para eliminar a presença do álcool produzido durante a fermentação.

Tabela 36. Condições de ensaios em sistema concomitante: fermentador e RAC de 4 compartimentos

Fase	Ensaio 5	Ensaio 6
S_0 (mg DQO.L ⁻¹)	17.900	17.900
TRH fermentador (horas)	24	24
TRH no RAC (dias)	2	1

7.3.7 Análise dos resultados

Para os experimentos realizados em triplicata, os dados amostrais foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey. As diferenças entre os tratamentos foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

7.4 RESULTADOS

7.4.1 Caracterização do soro de queijo

Os resultados da caracterização físico-química do soro de queijo tipo ricota se apresentam na Tabela 37, mostrando valores semelhantes com respeito como os valores da literatura. No entanto, o pH se apresentou muito mais acidificado, podendo se dever ao maior teor de proteína presente no lote de soro de queijo.

Tabela 37. Resultados da caracterização de soro de queijo

Análise	Soro de queijo	Literatura
DQO (mg.L ⁻¹)	600	750
Proteínas (%)	6,4	5,06
Lipídeos (%):		
Bligh Dyer	0,1	0,1
Gerber	0,1	0,4
Lactose (g.100g ⁻¹)	4,12	4,25
pH	4,5	6,34

Fonte: Murari (2017).

7.4.2 Resultados de Ensaio

Na Figura 5 se apresentam os resultados do ensaio 1 com concentração inicial de soro de queijo de 28.100 mg DQO.L⁻¹ em fermentação com *Kluyveromyces marxianus*, obtendo na saída do fermentador valores oscilando entre 12 e 15 g DQO.L⁻¹ no período de 0-400 h e o RAC se manteve em consumo constante até conseguir 0,6 g DQO.L⁻¹.

Do período entre 400 até 696 h, os compartimentos permaneceram em consumo constante e no C5 chegou a se manter constante em 6 g DQO.L⁻¹ até o final do teste, o que indicou que o reator diminuiu o consumo de substrato devido a que acima de 15 g DQO.L⁻¹ o reator começa a ter dificuldades de consumo de substrato. A Figura 6 apresenta o ensaio 1b que representa o teste anterior mas com a variação de uma DQO total (amostras sem centrifugar) no período das 0 - 432 horas, se mantendo de C1 até o C4 acima de 12 g DQO.L⁻¹ e C5 acima de 6 g DQO.L⁻¹ e em ascensão, passando as 264 h com 10 g DQO. L⁻¹. A remoção total média foi de 69% com um coeficiente de variação de +/-8,1, o que implica uma diferença menor com as amostras centrifugadas de 12,5%.

Figura 5. Resultado de DQO do ensaio 1 para o sistema concomitante com $S_0 = 28.100 \text{ mg DQO.L}^{-1}$

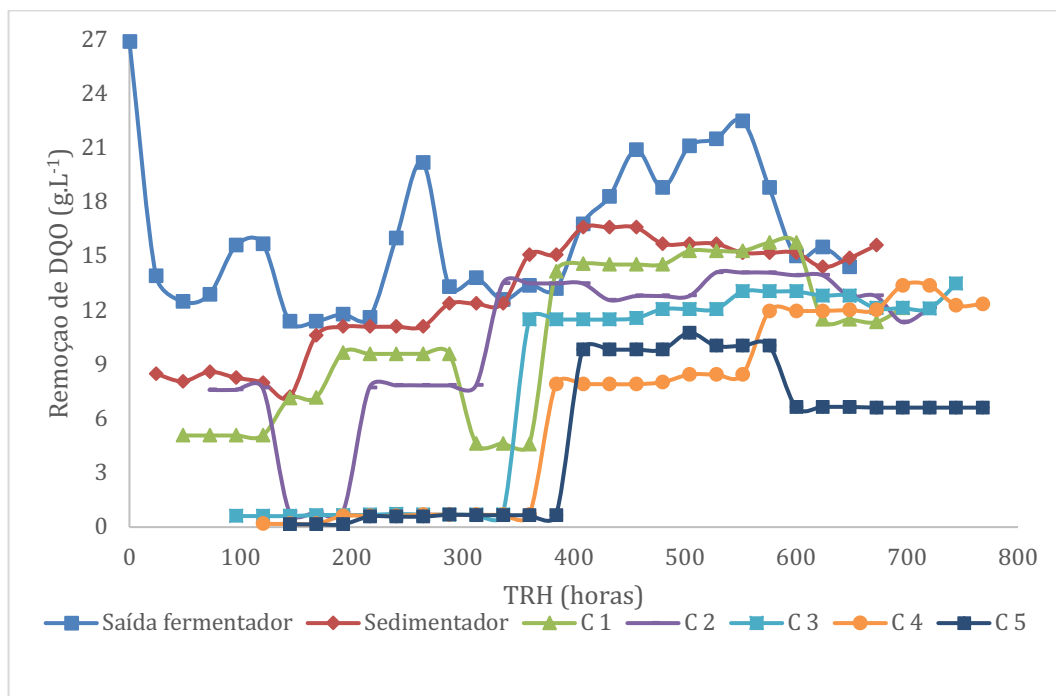
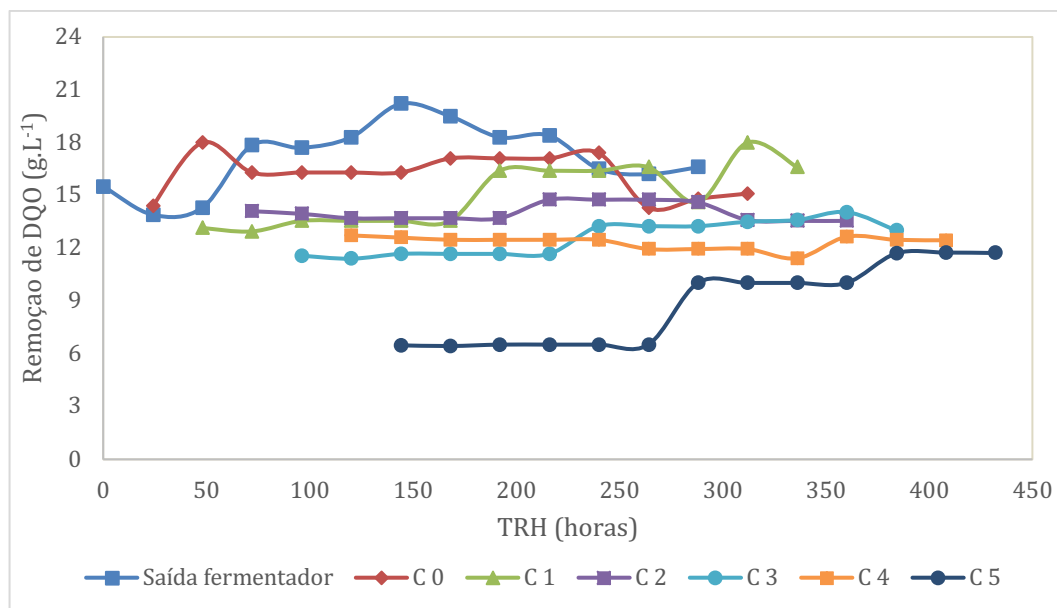


Figura 6. Ensaio 1b do sistema concomitante com $S_0 = 28.100 \text{ mg DQO.L}^{-1}$ na entrada do fermentador e amostragem sem centrifugar



De acordo com a Tabela 38, a eficiência total do sistema foi de 81,5 % com um coeficiente de variação de ± 14.7 o qual se deve aos períodos inconstantes de remoção dentro do RAC, assim como ao período de adaptação do lodo ao soro e à própria *Kluyveromices marxianus* durante as primeiras fermentações e em cada troca e re-inoculação de levedura.

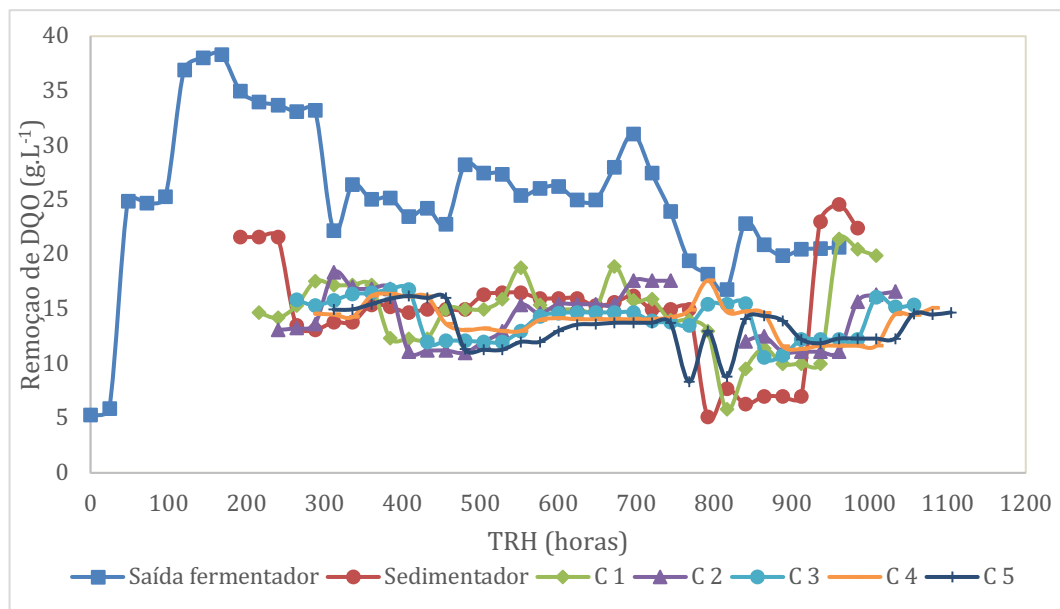
O ensaio 2 com concentração inicial $32.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$ de soro de queijo se apresenta na Figura 7, com amostragem sem centrifugar iniciando a análise de DQO para o RAC a partir das 200 h, mantendo-se na faixa de 12 até 16 g DQO.L^{-1} até as 744 h e posteriormente tendo uma queda na DQO até 8 g.L^{-1} no C5. A fermentação da levedura finalizou as 960 h e o RAC as 1.104 h obtendo $14.7 \text{ g DQO.L}^{-1}$ no C5.

A eficiência total média foi de 58,42% com um coeficiente de variação de $\pm 5,86$, observando que a maior remoção foi realizada no sedimentador assim como no fermentador, que mostrou uma eficiência média baixa de 22,69%.

É essencial mencionar que a somatória das eficiências totais médias do fermentador, sedimentador e RAC não coincidem com a eficiência total média do sistema, devido a que tal como aparece na Figura 7, durante o processo se observa, em vários pontos, remoções menores a 10% no reator anaeróbio, o qual se deve a que a concentração de soro na entrada do RAC era demasiado alta inibindo todo o sistema de digestão anaeróbia.

No apêndice 3, se apresentam as eficiências de cada ponto do fermentador, sedimentador e RAC do ensaio 2.

Figura 7. Resultado de DQO do ensaio 2 para o sistema concomitante com $S_0 = 32.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$



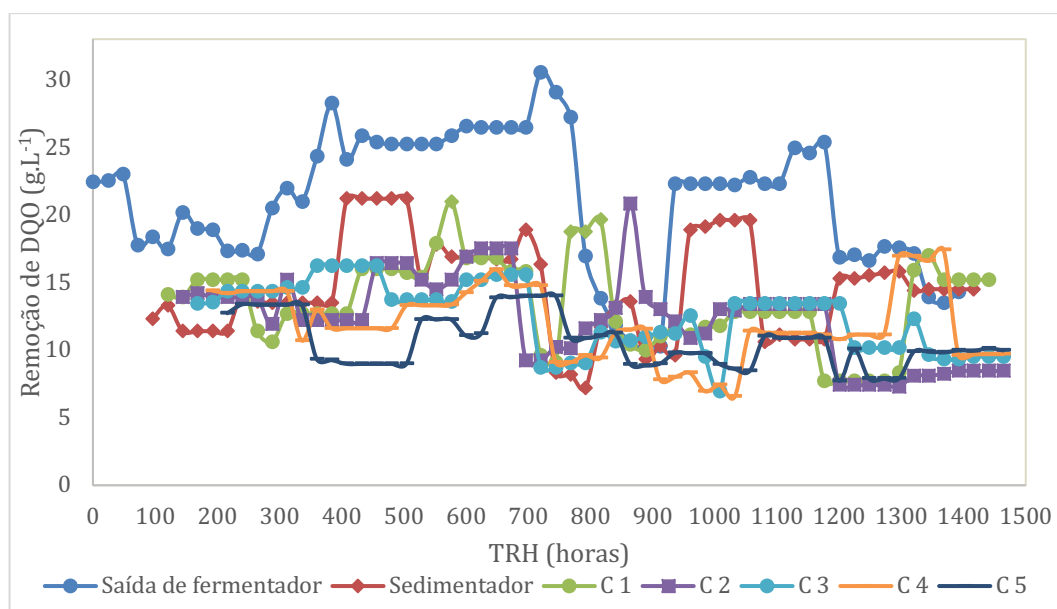
A Figura 8 refere-se ao ensaio 3 com $S_0=36.000 \text{ mg.L}^{-1}$, mostrando uma variação na remoção no final de cada fermentação, oscilando entre os 30.000 e 9.000 mg.L^{-1} .

O sedimentador teve um comportamento de variação intermitente estável ao longo do período, fazendo uma ótima função em acompanhamento com a saída do fermentador, no entanto os compartimentos do RAC tiveram valores semelhantes 21.200 e 7.200 mg.L⁻¹.

Os compartimentos C1, C2, C3 e C4 foram próximos entre eles e, entre 360 e 672 h, o C5 ficou com a DQO menor na saída do reator. O período restante, o C5 teve valores iguais e maiores que os obtidos nos compartimentos C1, C2, C3 e C4.

As eficiências do sistema foram: 41,34% +/- 14,18 no fermentador, 27,6% +/-21.14 no sedimentador e 17,55% +/-19,55 no RAC, com uma eficiência total média no sistema de 70,5% +/-5,86, valor que não coincide com as somas das eficiências dos três processos pois esses valores são uma média das eficiências de todas as amostras, as quais apresentam variações de remoção ao longo do ensaio entre 55% e 69 %. Tais valores se apresentam no apêndice 3.

Figura 8. Resultado de DQO do ensaio 3 para o sistema concomitante com $S_0 = 36.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$



A concentração $S_0 = 24.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$ foi utilizada no ensaio 4, mostrando os resultados do comportamento da remoção na Figura 9, com remoções na saída do fermentador de 58% no período de 216 - 264 h, 51% entre 360 - 408 h e de até 61% e 43% entre 576 - 672 h.

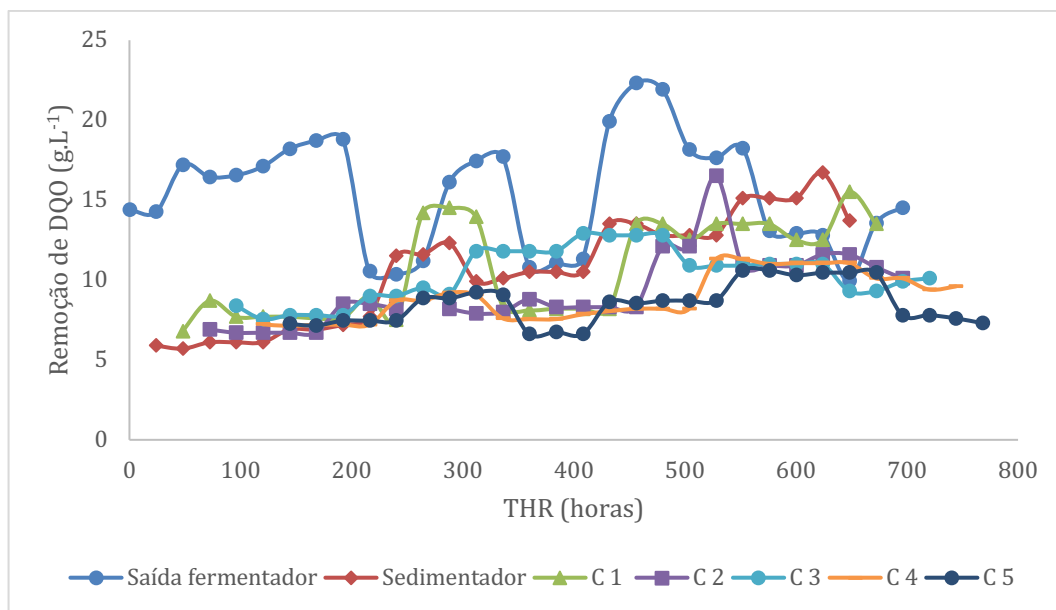
O comportamento do sedimentador pode ser atribuído ao incremento da biomassa precipitada ao longo do processo contínuo que iniciou na faixa de $5,9 \text{ g.L}^{-1}$ e terminou com $13,7 \text{ g.L}^{-1}$ no último dia de fermentação.

A tendência dos compartimentos do RAC tem uma diferença de remoção a partir das 200 h, apresentando no C1 concentrações semelhantes com o sedimentador, indicando que a levedura entrou no RAC interferindo na amostragem do C1 e C2. O C4 e C5 tiveram valores semelhantes o qual foi resultado da baixa eficiência do último compartimento.

As eficiências médias do ensaio se apresentam na Tabela 37, onde se observa a eficiência total média do sistema de $64,61\% \pm 5,47$, assim como as eficiências médias do fermentador com $34,4\% \pm 14,64$, sedimentador $26,88\% \pm 31,89$ e do RAC $14,75\% \pm 23,56$, observando-se claramente que o desvio padrão do sedimentador e o RAC são maiores que as eficiências médias.

Isto deve-se a que, em 6 amostras no sedimentador assim como em 10 amostras no RAC, não se obteve eficiência. Essas alterações causaram que a soma das eficiências médias dos processos separados não coincida com a eficiência total média do sistema.

Figura 9. Resultado de DQO do ensaio 4 para o sistema concomitante com $S_0 = 24.000 \text{ mg DQO.L}^{-1}$

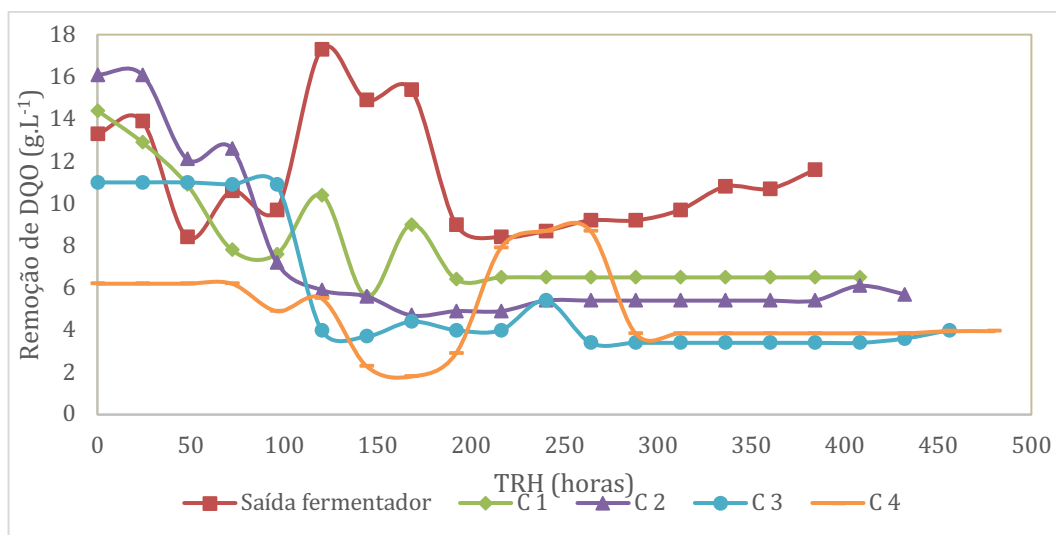


No apêndice 3, são apresentados os valores das eficiências separadas do processo: fermentador, sedimentador e RAC.

Os resultados de DQO do ensaio 5 com $S_0 = 17.900 \text{ mg DQO.L}^{-1}$, em um fermentador que alimenta (livre de álcool) um RAC de quatro compartimentos em um período de 480 h até a saída do C4, são mostrados na Figura 10. A partir das 144 h se obteve uma remoção gradual do sistema concomitante (sem sedimentador), no entanto, o C4 teve uma diminuição da remoção que também se observou no C3 as 240 h e posteriormente no mesmo compartimento se manteve com uma remoção de 3.400 mg.L^{-1} que é similar a 3.850 mg.L^{-1} do C4. As eficiências médias do processo separado foram: $38,02\% \pm 15,52$ no fermentador e $60,34\% \pm 9,91$. A eficiência total do sistema foi de $74,30\% \pm 11,69$ valor que não coincide com a soma das eficiências separadas, o qual como já foi mencionado anteriormente nos outros ensaios, se obteve uma ampla variação na remoção tanto na adaptação da levedura como no lodo anaeróbio.

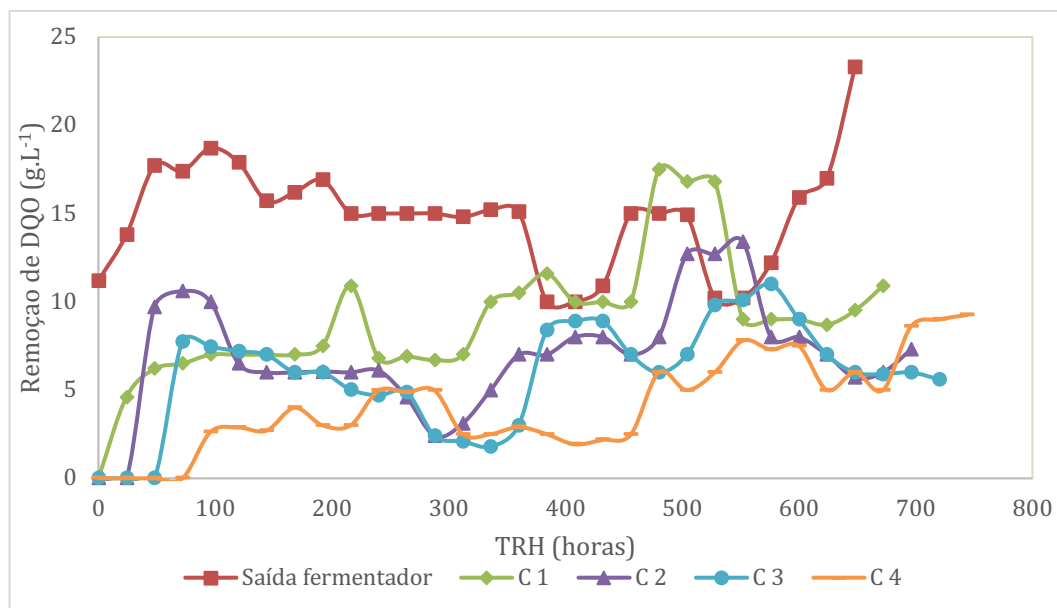
No apêndice 3 se apresentam as eficiências de cada amostra, destacando-se principalmente na fermentação valores oscilando entre 3% até 53% de remoção.

Figura 10. Resultado de DQO do ensaio 5 para o sistema concomitante com $S_0 = 17.900 \text{ mg DQO.L}^{-1}$



Na Figura 11 se observa a DQO do sistema integrado pelo fermentador e o RAC de quatro compartimentos que corresponde ao ensaio 6, com um comportamento na remoção máxima de 35% entre o período de 384 e 432 h no fermentador e novamente entre o período das 528 até 552 h de 33%. Mesmo que o soro testado tendo partido na mesma concentração inicial de DQO durante todas as fermentações no período das 0 até 648h, a eficiência final (saída do fermentador) na redução de carga orgânica não foi satisfatória para todos os testes nem para cada período experimentado. Por outra parte, a eficiência média do fermentador foi de 18,91% +/-14,52, 48,5% +/-19,62 no RAC e 74,5% +/-11,88 no sistema completo, coincidindo com a eficiência total do sistema do ensaio 5, que teve a vazão de 2 L.dia^{-1} , diferente da vazão nesse ensaio de 4 L.dia^{-1} . No apêndice 3 se apresentam os resultados das eficiências do sistema separado e total do ensaio 6.

Figura 11. Resultado de DQO do ensaio 6 para o sistema concomitante com $S_0 = 17.900 \text{ mg DQO.L}^{-1}$



Vale mencionar que os ensaios 5 e 6 foram realizados em um reator anaeróbio de quatro compartimentos, descartando o uso do sedimentador, contrário aos quatro primeiros ensaios em RAC de 5 compartimentos em conjunto com o sedimentador de biomassa.

A boa eficiência do sistema concomitante, utilizando e não utilizando o sedimentador, é atribuída à capacidade de remoção da *Kluyveromyces marxianus* durante a fermentação de soro de queijo assim como a digestão anaeróbia a qual já é usada como um sistema de tratamento de efluentes de grande capacidade de remoção de matéria orgânica. Para facilitar as análises dos ensaios anteriores, foram agrupadas as eficiências médias de cada conjunto (fermentador-sedimentador-RAC de cinco compartimentos, fermentador-RAC de quatro compartimentos), com seu respectivo desvio padrão, acrescentando também a remoção média de matéria orgânica e a remoção tratada em g DQO.dia^{-1} , onde o tratamento de remoção é a quantidade de matéria orgânica removida em g.L^{-1} dividida pela vazão testada em cada ensaio em L.h^{-1} .

No apêndice 3 encontram-se os resultados das eficiências para amostra de cada ensaio.

Pode-se observar que *Kluyveromyces marxianus* apresentou as melhores remoções durante a fermentação no ensaio 1 com um valor de 32 g DQO.L⁻¹ e a menor remoção na menor concentração testada de 17,9 g DQO.L⁻¹ devido a que *Kluyveromyces marxianus* fermenta o soro de queijo com concentrações altas de 45.000 mg DQO.L⁻¹ de acordo com Murari (2017), que obteve valores de remoção de 68,6 %. Por outra parte, o RAC de quatro compartimentos alcançou uma eficiência de 60,34% sendo a mais alta dos ensaios e que teve uma carga orgânica de 5,61 g.L⁻¹.dia⁻¹ a qual fica dentro dos limites estabelecidos por Cordoba *et al.* (1995) de 8,9 g.L⁻¹.dia⁻¹ considerada como carga superior segura na literatura.

Cichello, Tommaso e Ribeiro (2012) trabalharam com 15,4 g.L⁻¹.dia⁻¹ em um UASBh para o tratamento de laticínios, e Hamerski (2012), utilizando uma carga orgânica de 12,58 a 29,2 g.L⁻¹.dia⁻¹, obtiveram uma remoção de 58% em um reator UASB para o tratamento de efluentes provenientes da indústria de laticínios. Por outra parte, Dereli *et al.* (2019) testaram, para o tratamento de efluentes de soro, um biorreator de membrana anaeróbio de fluxo cruzado para abordar as dificuldades comumente encontradas no desempenho instável e as perdas inesperadas de biomassa dos reatores anaeróbios, obtendo remoções de até 90% e fluxos moderados de membrana de entre 8 e 11 L.m⁻².h⁻¹ aplicando uma baixa velocidade de fluxo de 0,5 m.s⁻¹.

7.4.3 Resultados análises de dados

Tabela 38. Resultados de eficiência

	Fermentador Eficiência %	Sedimentador Eficiência %	RAC Eficiência %	Eficiência Total %	Remoção Total g DQO.L⁻¹
Ensaio 1	44,24 ±12,22	17,75 ±18,16	46,35 ±61,74	81,51 ±14,71	22,90 ±4,14
Ensaio 2	22,69 ±13,01	38,98 ±21,71	04,66 ±27,28	58,42 ±05,86	18,69 ±1,87
Ensaio 3	41,34 ±14,18	27,60 ±21,14	17,55 ±19,55	70,50 ±05,13	25,38 ±1,84
Ensaio 4	34,40 ±14,64	26,88 ±31,89	14,75 ±23,56	64,61 ±05,47	15,50 ±1,31
Ensaio 5	38,02 ±15,52	-- --	60,34 ±09,91	74,30 ±11,69	13,33 ±2,03
Ensaio 6	18,91 ±14,52	-- --	48,50 ±19,62	74,50 ±11,88	13,16 ±2,26

*(--) Não foi utilizado

7.5 Conclusões

De acordo com a variação dos resultados de remoção, se obtiveram desvios-padrão muito grandes, pelo que não foi viável realizar o ANOVA pois os 6 ensaios foram amplamente diferentes obtendo visivelmente diferenças significativas.

As eficiências totais médias do sistema concomitante alcançaram uma remoção de 81% para a concentração inicial de 28.100 mg DQO.L⁻¹, sendo a mais alta obtida em todos os ensaios.

O uso do sedimentador beneficia na remoção de biomassa assim como na eficiência geral do sistema concomitante.

7.6 Referências

APHA (American Public Health Association), **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20th Edition, ed. Clesceri L.S., Greenberg A.E., Eaton A.D.. Washington, DC: American Public Health Association, 1998.

CICHELO, G. C. V; TOMMASO, G.; RIBEIRO, R. Characterization and Kinetics of the Anaerobic Treatment of Dairy Wastewaters. **Unopar Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**. 15, 27–40. 2012.

DERELI, R. K., ZE, V. D., OZTURK, F. P., LIER, I. V., JULES, B. Treatment of cheese whey by a cross-flow anaerobic membrane bioreactor: Biological and filtration performance. **Environmental Research**. 168, 109–117. 2019.

HAMERSKI, F. Ascendente com manta de lodo (UASB) no tratamento de efluentes. **Environmental Research**. 168, 109-117. 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4 edição, edição digital, São Paulo. 2008.

MILLER, G. H. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, 31, p. 426- 429. 1959.

MURARI, C. S. Isolamento, seleção e aplicação de leveduras não convencionais para produção de bioetanol a partir do soro de queijo. Tese de doutorado, IBILCE-UNESP. 2017.

TEXEIRA L.V., FONSECA, L. M. (2008). Perfil físico-químico do soro de queijos mozzarella e minas-padrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, 60(1),243-250.

8 CONCLUSÃO GERAL

De modo geral, todos os testes realizados neste trabalho alcançaram remoções de matéria orgânica de soro de queijo, resumindo: para o reator aeróbio – anaeróbio compartimentado com levedura e manta de lodo, a melhor remoção foi de 98% na concentração de 9.000 mg DQO.L⁻¹; para o sistema conformado pelo reator de bolhas para a aerobiose da levedura, sedimentador e RAC, a remoção alcançou 89,9% com a concentração de entrada de 6.000 mg DQO.L⁻¹. No caso do RAC de volume de 5 L, se obteve remoções de 14% devido a falta de aclimação do lodo, no entanto o RAC de 35,7 L obteve uma remoção de 93% para a concentração de 2.000 mg DQO.L⁻¹. O sistema concomitante de fermentação – sedimentador – RAC de 5 compartimentos conseguiu uma remoção de 81%, com concentração inicial de 28.100 mg DQO.L⁻¹ e por último para sistema concomitante do fermentador da levedura seguido da digestão anaeróbia em um RAC de 4 compartimentos teve uma eficiência de 74% para 17.900 mg DQO.L⁻¹ de concentração inicial.

O resultado da remoção efetuada pelos processos aeróbios e anaeróbios tem sido muito satisfatória para o tratamento de soro de queijo considerando a combinação de ambos processos (fermentação, aerobiose e digestão anaeróbia) para altas concentrações de substrato, chegando a obter remoções totais de até 98%.

Tanto o processo de digestão anaeróbia como a aerobiose, além de apresentar um alto aproveitamento de resíduos de laticínios, são uma alternativa de geração de coprodutos como são a biomassa e o etanol no caso da fermentação e de biogás em digestão anaeróbia.

A causa da baixa concentração de gordura presente no soro de queijo, foi desconsiderado o uso da lipase no sistema concomitante, pois os resultados de atividade lipolítica com creme de leite o qual tem um maior teor de gordura que o soro, se obtiveram valores baixos de atividade lipolítica, além de que a adição deste processo aumentaria o custo do sistema pela manutenção do fungo a ser utilizado.

9 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com o sistema concomitante apresentando vantagens sobre o sistema anaeróbio, pode-se adicionar um pos-tratamento utilizando *Spirulina platensis*, que também já é estudada para o tratamento de efluentes.

A recuperação de coprodutos como o etanol e o biogás, assim como a levedura, é uma alternativa viável para aumentar mais ainda as vantagens deste tipo de sistema de tratamento de efluentes.

Sugere-se prosseguimento nas pesquisas de sistemas concomitantes, com vistas à operação de campo, onde é difícil operar em condições estáveis, assim como um seguimento nos testes de álcool para obter o limite máximo de tolerância de etanol no lodo anaeróbio.

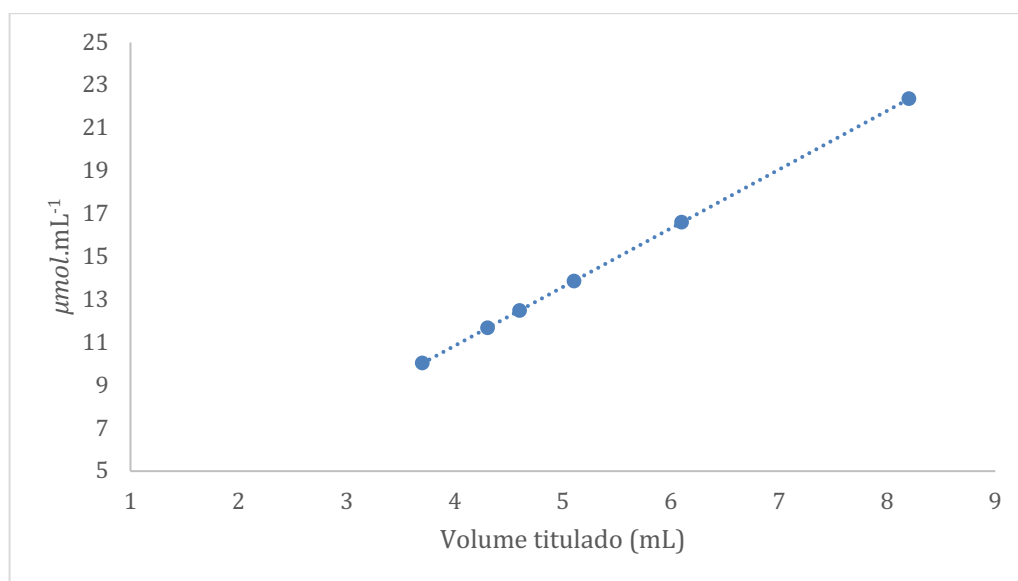
APÊNDICE A. Curva padrão de ácido caproico

A equação da reta teve um coeficiente de correlação linear ($R^2=0.99695$) da curva de calibração de ácido capróico (eq 1) presente na Figura A1.

$$\mu\text{mol.mL}^{-1} = 2.7405 v_{\text{KOH}} - 0.1104$$

(1)

FIGURA 12. Curva padrão de ácido caproico



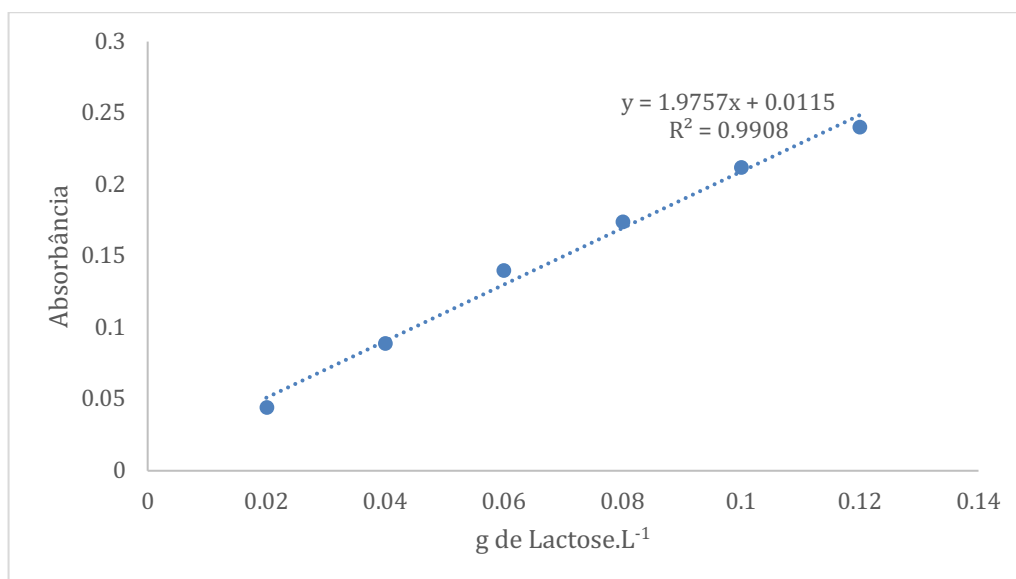
APÊNDICE B. Curva padrão de lactose para DNS

A equação da reta teve um coeficiente de correlação linear ($R^2=0.9908$) da curva de padrão de lactose (Eq 2) para análise de DNS.

$$g \text{ de açúcar} = 1,9757 \text{ abs} + 0.0115$$

(2)

FIGURA 13. Curva padrão de lactose



APÊNDICE C. Eficiências dos ensaios

Tabela 39. Eficiências do ensaio 1

% Eficiência Fermentador	% Eficiência Sedimentador	% Eficiência RAC 5C	% Eficiência total do sistema
50.5338078	38.8489209	97.0049261	99.4590747
55.5160142	35.4	97.0049261	99.4590747
54.0925267	33.3333333	97.0049261	99.4590747
44.4839858	46.9551282	88.4926108	97.9217082
44.1281139	49.044586	91.8035088	97.9217082
59.430605	36.8421053	91.9303136	97.9395018
59.430605	7.01754386	92.9302326	97.5658363
58.0071174	5.93220339	93.1354167	97.6548043
58.7188612	4.31034483	93.1354167	97.6548043
43.0604982	30.625	93.1354167	97.6548043
28.113879	45.049505	93.1354167	97.6548043
52.6690391	6.95488722	-111.85345	65.0177936
50.8896797	10.326087	-111.85345	65.0177936
55.1601423	1.78571429	-114.16122	65.0177936
52.3131673	-12.686567	30.5300353	65.0177936
53.024911	-14.393939	26.3013699	61.7081851
40.2135231	1.19047619	30.9965636	64.2704626
34.8754448	9.28961749	30.9965636	64.2704626
25.6227758	20.5741627	30.9965636	64.2704626
33.0960854	16.4893617	56.4705882	76.2989324
24.911032	25.5924171	56.4705882	76.2989324
23.4875445	26.9767442	56.4705882	76.2989324
19.9288256	32.4444444	57.968254	76.4412811
33.0960854	19.1489362	57.968254	76.4412811
46.6192171	-1.3333333	42.4347826	76.4412811
44.8398577	7.09677419	42.4347826	76.4412811
48.7544484	-3.4722222	41.6740088	76.4412811

Tabela 40. Eficiências do ensaio 2

% Eficiência Fermentador	% Eficiência Sedimentador	% Eficiência RAC 5C	% Eficiência total do sistema
22.1875	13.253012	-1.7006803	53.28125
20.9375	14.6245059	-5.4577465	53.203125
-5.3125	35.9050445	-0.9803922	51.71875
-3.4375	59.2145015	9.11680912	50.15625
-3.75	60.5421687	5.81395349	49.375
30.625	37.8378378	6.83139535	49.921875
17.5	47.7272727	6.83139535	49.921875
21.625	38.5964912	8.29959514	64.609375
21.25	39.6825397	8.33333333	64.765625
26.5625	37.4468085	8.33333333	64.765625
24.21875	38.1443299	20	62.5
28.90625	34.0659341	20	62.5
11.875	46.8085106	13.33333333	59.375
14.21875	40.6193078	14.6226415	57.578125
14.453125	39.7260274	27.5265957	57.421875
20.5208333	35.1245085	10.7142857	57.03125
18.5763889	38.5927505	8.33333333	57.03125
17.9513889	39.0605163	8.33333333	57.03125
21.875	36	8.33333333	57.03125
21.875	38.8	55.8201058	73.90625
12.5	44.2857143	17.721519	59.375
2.91666667	47.8540773	44.6540881	72.5
14.1666667	45.3883495	-0.7142857	55.9375
25.2083333	37.3259053	-2.6785714	55.078125
39.3055556	22.7688787	-7.3076923	56.40625
43.1597222	71.9609041	-110.77586	61.796875
47.5	54.1666667	-25	62.890625
28.5763889	72.4355858	-7.8947368	61.5625
34.7222222	66.4893617	-23	61.5625
37.8819444	64.784796	-23	61.5625
36.0511364	65.7929809	-23	61.5625
35.7670455	-11.897391	31.8925234	54.453125
35.4261364	-19.049714	29.2682927	54.6875
35.625	-8.7378641	26.1306533	54.0625

Tabela 41. Eficiências do ensaio 3

% Eficiência Fermentador	% Eficiência Sedimentador	% Eficiência RAC 5C	% Eficiência total do sistema
48.9529915	33.0682294	9.75177305	64.65277778
51.517094	23.7990304	3.77697842	62.84722222
44.017094	43.4351145	12.1710526	62.91666667
47.3504274	39.8538961	12.1710526	62.91666667
47.5	39.6825397	12.1710526	62.91666667
51.8376068	34.2502218	12.1710526	62.91666667
51.7735043	18.2100133	18.2017544	74.09722222
52.5213675	20.4320432	12.7358491	74.30555556
43.0555556	34.1463415	29.3307087	75.06944444
38.9646465	38.5601986	29.3307087	75.06944444
41.7171717	35.6585789	29.3307087	75.06944444
32.4242424	44.5067265	29.3307087	75.06944444
21.540404	52.2046991	29.3307087	75.06944444
33.030303	12.066365	23.4375	65.97222222
28.2575758	17.9162267	23.4375	65.97222222
29.5707071	16.3858014	23.4375	65.97222222
29.8989899	15.9942363	29.6178344	69.30555556
29.8989899	15.9942363	27.2727273	68.88888889
29.8989899	39.3731988	22.6256983	61.52777778
29.8989899	29.4668588	33.8095238	61.38888889
28.2070707	34.6113261	16.6666667	61.11111111
26.3131313	36.2919808	16.6666667	61.11111111
26.4646465	36.1607143	16.6666667	61.11111111
26.4646465	36.9162088	31.1708861	69.79166667
26.4646465	36.9162088	31.1708861	69.79166667
26.4646465	28.6057692	-15.15625	69.29166667
15.1388889	46.6448445	-23.626374	68.75
19.3055556	71.4285714	52.393617	75.13888889
24.4444444	69.8529412	52.9255319	75.41666667
52.962963	57.480315	54.3147208	75
61.6666667	15.2173913	19.0082645	72.77777778
67.1296296	-11.549296	6.25	72.91666667
70.5555556	-28.301887	2.5	72.91666667
72.1296296	7.3089701	18.6363636	75.13888889
71.4814815	-0.3246753	25.862069	76.11111111

38.1018519	56.9184742	23.8738739	76.52777778
38.1018519	15.1832461	5.76923077	69.375
38.1018519	14.2857143	7.62711864	69.72222222
38.1018519	12.0418848	14.84375	69.72222222
38.287037	11.7779445	14.84375	69.72222222
36.7592593	13.909224	14.84375	69.72222222
38.1018519	52.4308153	39.6484375	78.54166667
38.1018519	50.1869858	21.2890625	72.01388889
30.6944444	56.7134269	38.4765625	78.125
31.8055556	56.0081466	-2.2727273	78.125
29.5833333	57.3964497	-2.2727273	78.125
53.2142857	9.16030534	-28.246753	72.56944444
52.6984127	10.1510067	-28.246753	72.56944444
53.8492063	6.70679278	-27.597403	72.70833333
50.9722222	11.0481586	-20.180723	72.29166667
51.25	9.97150997	37.4213836	72.36111111
52.3611111	16.0349854	40.4411765	71.875
61.3888889	-4.3165468	34.375	72.29166667
62.5	-7.4074074	34.375	72.29166667
41.3480578	27.6012048	17.5537614	70.5
14.1807746	21.1406366	19.5551181	5.138213169

Tabela 42. Eficiências do ensaio 4

% Eficiência Fermentador	% Eficiência Sedimentador	% Eficiência RAC 5C	% Eficiência total do sistema
40	58.5964912	-6.6176470	69.7916667
40.625	66.8604651	17.816092	70.2083333
28.3333333	62.9179331	3.24675325	68.9583333
31.4583333	63.141994	3.24675325	68.9583333
31.0416667	64.3274854	3.24675325	68.9583333
28.75	62.0879121	-16.447368	63.125
24.1666667	63.1016043	-16.447368	63.125
22.0833333	61.7021277	-2.5	61.5625
21.6666667	26.8408551	-21	62.1875
56.1458333	-11.1111111	53.5211268	72.5
56.875	-3.5714286	53.4482759	71.875
53.3333333	23.6024845	52.688172	72.5
32.9166667	43.2664756	-2.6785714	64.0625
27.2916667	42.9378531	-5.2469135	64.4791667
26.25	2.77777778	-6.0975609	63.75
55	4.97737557	-6.0975609	63.75
53.9583333	7.07964602	-6.0975609	63.75
52.9166667	32.160804	21.4814815	55.8333333
17.0833333	39.4618834	21.4814815	55.8333333
7.08333333	41.5525114	17.6	57.0833333
8.75	29.476584	22.5925926	56.4583333
24.375	27.4787535	22.5925926	56.4583333
26.4583333	17.260274	22.5925926	56.4583333
23.9583333	-15.708812	37.6	67.5
45.625	-17.054264	37.6	67.5
46.25	-30.46875	50.9677419	68.3333333
46.6666667	-37.688442	45.9259259	69.5833333
34.4097222	26.889129	14.7562142	64.6141975
14.6447596	31.8940915	23.5697474	5.47603794

Tabela 43. Eficiências do ensaio 5

% Eficiência Fermentador	% Eficiência RAC 4C	% Eficiência total do sistema
22.3463687	63.1578947	72.6256983
53.0726257	60.4316547	69.273743
40.7821229	72.6190476	87.150838
45.8100559	83.0188679	89.9441341
3.35195531	70.1030928	83.7988827
16.7597765	54.3352601	55.8659218
13.9664804	41.6107383	51.396648
49.7206704	43.5064935	51.396648
53.0726257	57.2222222	78.4916201
51.396648	54.1666667	78.4916201
48.603352	55.7471264	78.4916201
48.603352	58.1521739	78.4916201
45.8100559	58.1521739	78.4916201
39.6648045	60.3092784	78.4916201
40.2234637	64.3518519	78.4916201
35.1955307	63.0841121	77.9329609

Tabela 44. Eficiências do ensaio 6

% Eficiência Fermentador	% Eficiência RAC 4C	% Eficiência total do sistema
37.4301676	42.9347826	85.3351955
22.9050279	53.6290323	83.9385475
1.11731844	58.4615385	84.9162011
2.79329609	42.8571429	77.6536313
-4.4692737	57.1428571	83.2402235
0	57.1428571	83.2402235
12.2905028	28.9285714	72.2067039
9.4972067	35	72.7653631
5.58659218	54.3577982	72.2067039
16.2011173	63.2352941	86.0335196
16.2011173	63.7681159	86.0335196
16.2011173	56.7164179	83.7988827
16.2011173	64.2857143	86.0335196
17.3184358	80.75	89.2458101
15.0837989	79.2857143	87.849162
15.6424581	78.6637931	86.1731844
44.1340782	40	66.4804469
44.1340782	50	72.0670391
39.1061453	40	66.4804469
16.2011173	55.4285714	56.424581
16.2011173	56.547619	59.2178771
16.7597765	55.3571429	58.1005587
43.0167598	44.4444444	72.0670391
43.0167598	33.3333333	66.4804469
31.8435754	44.4444444	72.0670391
11.1731844	1.14942529	51.9553073
5.02793296	5.26315789	49.7206704