

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA
NÍVEL DE MESTRADO

ESTUDO DA CINÉTICA DE BIODEGRADAÇÃO DE EFLUENTE
COM ALTA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS

Autor: Rogério do Nascimento

Toledo – Paraná – Brasil

Agosto - 2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA
NÍVEL DE MESTRADO

ESTUDO DA CINÉTICA DE BIODEGRADAÇÃO DE EFLUENTE
COM ALTA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS

Autor: Rogério do Nascimento

Orientador: Prof. Dr. Aparecido Nivaldo Módenes

Co-Orientador: Prof. Dr. Fernando Espinoza Quiñones

Dissertação de Mestrado submetida à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química, área de Desenvolvimento de Processos.

Toledo – Paraná – Brasil

Agosto – 2009

Catálogo na Publicação elaborada pela Biblioteca Universitária
UNIOESTE/Campus de Toledo.

Bibliotecária: Marilene de Fátima Donadel - CRB – 9/924

N244e	Nascimento, Rogério do Estudo da cinética de biodegradação de efluente com alta concentração de ácidos graxos / Rogério do Nascimento. -- Toledo, PR : [s. n.], 2009 viii ; 84 f. Orientador: Dr. Aparecido Nivaldo Módenes Co-orientador: Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones Dissertação (Mestre em Engenharia Química) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Campus de Toledo. Centro de Engenharias e Ciências Exatas. 1. Ácidos graxos 2. Biodegradação 3. Cinética 4. Reatores anaeróbios 5. Efluentes industriais - Tratamento 6. Modelos matemáticos 7. Simulação I. Módenes, Aparecido Nivaldo, Or. II. Quiñones, Fernando Rodolfo Espinoza, Or. III. T CDD 20. ed. 660.283 628.35
-------	--

Aos meus queridos filhos Gustavo Henrique D'Almeida Garrett do Nascimento e ao que está a caminho Kenzo Rafael D'Almeida Garrett do Nascimento.

Dedico.

Ao amigo Prof. Dr. Aparecido Nivaldo Módenes pela orientação e não desistência,

Aos amigos Prof. Dr. Almabruk Mansor Abudegerah e Plínio Ribeiro Fajardo Campos que me mostraram a beleza da profissão de engenheiro químico,

Aos bons amigos Dom Agremis Guinho Barbosa e Dom Mardonny Barreira, pelos momentos e atenção sempre dispensada a minha pessoa,

E a todos aqueles que neste momento não lembrei o nome, no entanto sabem que são importantes em minha caminhada...

Meus Agradecimentos.

EPÍGRAFE

"Sempre que me relacionar com alguém, que eu me considere a criatura mais ínfima de todas e que encare o outro como supremo do fundo do meu coração!...

Quando eu vir seres de natureza perversa, oprimidos por tormentos e pecados violentos, que eu considere de alto valor essas criaturas raras como se tivesse encontrado um precioso tesouro!...

Quando os outros, por inveja me tratarem mal com imprecizações, calúnias e atitudes semelhantes, que eu sofra a derrota e ofereça a vitória aos outros!...

Quando aquele, a quem beneficiei com grande esperança, me ferir profundamente, que eu possa encará-lo como meu supremo Guru.

Em suma, que eu possa direta ou indiretamente, oferecer benefícios e felicidades a todos os seres; que eu em segredo possa assumir nos meus ombros a dor e o sofrimento de todos os seres!..."

Langri Thangpa (Santo Tibetano do século XI)

With or without you

I can't live

With or without you,

my sun...

U2

SUMÁRIO

Capítulo 1

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Organização da Dissertação.....	1
1.2 Contextualização do Tema	1
1.3 Objetivos da Pesquisa.....	6

Capítulo 2

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1 Biodegradação Anaeróbia – Conceitos.....	7
2.2 Análise do Efluente Líquido Gerado	9
2.3 Estequiometria da Utilização dos Substratos Complexos	10
2.4 Fase e Estágios da Utilização dos Substratos Complexos.....	13
2.5 Modelagem Cinética da Utilização dos Substratos pela Mistura de microrganismos	19
2.6 Efeito da repressão catabólica sobre referido substrato.....	28
2.7 Uso de modelos matemáticos para estudar o desenvolvimento de biofilmes.....	32
2.8 Influência da presença de ácidos graxos em efluentes	38
2.9 Efeito Diaúxico.....	41
2.10 Método de Identificação de parâmetros.....	43
2.10.1 Métodos Heurísticos	44
2.10.2 Métodos Metaheurísticos.....	45
2.10.3 Método do Enxame de Partículas	47
2.10.3.1 Componentes do PSO.....	48

Capítulo 3

3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	50
3.1 Materiais	50
3.2 Métodos	50
3.3 Dados Iniciais do Efluente.....	51

Capítulo 4

4. MODELAGEM MATEMÁTICA	53
4.1 Modelagem	53

Capítulo 5

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	56
5.1 Resultados Experimentais	56
5.2 Avaliação dos Modelos	62

Capítulo 6

6. CONCLUSÕES	71
6.1 SUGESTÕES	72

Capítulo 7

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
-------------------------------------	----

Capítulo 8

8. ANEXOS	76
8.1 Identificação do Índice de Ácidos Graxos Livres	76
8.2 Identificação do Índice de Ácido Oléico	78
8.3 Identificação do Índice de Ácido Acético	81

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Esta é a versão final da dissertação de Mestrado apresentada por Rogério do Nascimento a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia Química em 29 de outubro de 2009.

COMISSÃO JULGADORA



Prof. Dr. Aparecido Nivaldo Módenes

Orientador



Prof. Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones

Co-orientador



Profª. Drª. Márcia Regina Fagundes Klen

Membro



Prof. Dr. Marco Aurélio Praxedes

Membro

NOMENCLATURA

C - concentração, g/l

CO_2 – dióxido de carbono, mol/l

f – fração individual de bactéria na biomassa

f_{pr} – fator de conversão do acetato em propionato

f_{but} - fator de conversão do acetato em butirato

F_t – taxa de transferência de biogás, mol/d

H – constante de Henry's, atm l/mol

k – constante da taxa de hidrólise, 1/d

K_0 – constante de inibição, 1/d

K_a – constante de dissociação

k_d – taxa de decaimento bacteriano, 1/d

K_i – constante de inibição, g/l

K_s – constante de saturação de Monod, g/l

m – constante de alimentação

n – constante de alimentação

N – taxa de transferência de gás, g/d

$[NH_3]$ – concentração de amônia da fase líquida, mol/l

P - pressão, atm

t – tempo, d

T - temperatura, K

V_g – volume de gás, l

V_l – volume de líquido, l

VFA – ácidos graxos voláteis

X – concentração de microrganismos, g/l

y_e – fator de eficiência

μ - taxa de crescimento específico, 1/d

μ_{max} – taxa de crescimento específica máxima, 1/d

SUBSCRITOS

ac - acetato

am - amônia

A – bacteria acidogênica

AB – bacteria acidogênica degradando butirato

AP – bacteria acidogênica degradando propionato

But – butirato

c – dióxido de carbono

is – substrato insolúvel

m - metano

M – bactéria metanogênica

pr - propionato

s – substrato solúvel

RESUMO

Este trabalho é um estudo sobre a cinética da degradação anaeróbia de um efluente com alta concentração de lipídeos, em particular ácidos graxos livres, ácido acético e ácido oléico; tendo como parâmetro de medida de degradação a demanda química de oxigênio (DQO). Com base nestes estudos, partiu-se para a realização de um experimento de degradação do efluente em questão, em reator anaeróbio descontínuo, e, periodicamente realizado amostragens para análises de concentração de ácido graxos totais, ácido graxos livres, ácido oléico e DQO. Os resultados mostraram a eficiente biodegradação destes substratos no reator, e, a conseqüente diminuição da carga de DQO no efluente. Os dados experimentais obtidos foram empregados para o levantamento da cinética do processo; utilizando-os para estabelecer, através de modelagem matemática, os valores dos parâmetros cinéticos e obtenção dos valores ótimos destes com o emprego do método de enxame de partículas. Tanto os dados experimentais, quanto a modelagem matemática, mostrou a interação entre os substratos presentes no processo; por exemplo, a preferência do consórcio microbiano em degradar os ácidos graxos livres e ácido oléico em relação ao ácido acético. Também foi possível demonstrar um período de latência do processo, no consumo de matéria orgânica, através do perfil de DQO; devido à formação de ácidos graxos livres e ácidos oléico. E, a posterior diminuição destes parâmetros assim que estes substratos começaram a serem degradados. Do ponto de vista prático, este trabalho sugere boa eficiência em se aplicar esta tecnologia, de biodegradação, no tratamento de efluentes com elevados teores de lipídeos.

Palavras – Chave: biodegradação, ácidos graxos, modelagem matemática

ABSTRACT

This work is a study on the kinetics of anaerobic degradation of effluent with a high concentration of lipids, particularly fatty acids, acetic acid and oleic acid, having as a parameter for measuring the degradation chemical oxygen demand (COD). Based on these studies, we decided to conduct an experiment of degradation of the effluent in question in anaerobic batch, and periodically conducted sampling for analysis of total fatty acid concentration, free fatty acid, oleic acid and COD. The results showed the efficient biodegradation of these substrates in the reactor, and the consequent reduction of COD load in the effluent. The experimental data were used to survey the kinetics of the process, using them to establish, through mathematical modeling, the values of kinetic parameters and obtain the optimal values of these with the use of the method of particle swarm. Both the experimental data, the mathematical modeling showed the interaction between the substrates present in the process, for example, the preference for degrading microbial consortium in the free fatty acids and oleic acid relative to acetic acid. It has also been possible to demonstrate a latency period of the process, the consumption of organic matter through the profile of COD, due to the formation of free fatty acids and oleic acid. And, the subsequent reduction of these parameters so that these substrates have begun to be degraded. From a practical standpoint, this work suggests good efficiency in applying this technology, biodegradation in the treatment of effluents containing high levels of lipids.

Key - words: biodegradation, fatty acids, mathematical modeling

1. INTRODUÇÃO

1.1 Organização da Dissertação

Neste capítulo é apresentada uma visão global deste trabalho, a qual sugere o tema e objetivos a serem atingidos. Mais ainda, demonstra a estrutura organizacional da dissertação nos seguintes capítulos subsequentes.

O capítulo 2 refere-se ao levantamento bibliográfico sobre as questões abordadas neste trabalho, tais como os aspectos e conceitos da biodegradação anaeróbia, tecnologias empregadas, mecanismos envolvidos no processo, entre outros aspectos.

O capítulo 3 traz os materiais e métodos empregados no desenvolvimento do experimento de biodegradação do efluente a ser estudado, bem como as análises utilizadas no momento de avaliação do progresso da biodegradação.

O capítulo 4 mostra a modelagem matemática utilizada para representar a biodegradação do efluente, bem como o detalhamento deste que levou aos melhores resultados.

O capítulo 5 aborda o tema em si, apresentando os resultados experimentais da biodegradação realizada, e a performance de dois modelos utilizados para representar o processo; ainda, apresenta as discussões dos resultados obtidos com a otimização dos parâmetros cinéticos destes modelos.

O capítulo 6 apresenta as conclusões e sugestões para trabalhos futuros.

O capítulo 7 relaciona as principais referências bibliográficas, as quais formaram a base literária deste trabalho. Finalmente, o capítulo 8 traz alguns anexos importantes para a compreensão do trabalho.

1.2 Contextualização do Tema

A história do homem sobre a Terra é “a história da ruptura progressiva entre a sociedade e o entorno”, na definição encontrada em Oliveira (2002). Porém, ultimamente, as condições sobre a oposição entre a natureza e a cidade, ao se tornarem cada vez mais exacerbadas, tornaram-se igualmente sem sentido. Oliveira (2002), em sua tese de doutorado, caracteriza que a natureza, vista em dimensão histórica, inclui o homem, seus atos, conhecimentos, crenças, potencialidades e limites.

Já são antigos os problemas associados à degradação do meio ambiente pela população, pelos órgãos públicos e pelas empresas privadas. Atualmente, inclusive, há certo consenso de que o país já não pode crescer a qualquer custo, provando com isto uma deterioração irreversível do ambiente. A proteção ao meio ambiente ganhou amplitude mundial e passou a ser devidamente reconhecida a partir do momento em que a degradação ambiental atingiu índices alarmantes e a pessoa humana tomou consciência de que a preservação de um ambiente sadio está intimamente ligada à preservação de sua própria espécie.

Existe no Brasil um conjunto crescente de regulamentação governamental feita no sentido de proteger o ambiente. Deve ser observado, entretanto, que é a própria empresa que deve procurar incorporar estes problemas na elaboração do projeto, fazendo uma análise de custo/benefício. Entretanto, em razão da necessidade da preservação do meio ambiente associando-se a idéia da preservação da espécie humana, a proteção ambiental torna-se uma prioridade da agenda internacional contemporânea, com o desenvolvimento de Tratados Internacionais e programas com o fito de preservá-lo; requerem do direito internacional público, em processo de continua expansão, soluções aos problemas globais que apresentam, além de um enriquecimento conceitual para fazer face às realidades dos novos tempos o desenvolvimento das leis nacionais e dos órgãos que delegam no âmbito nacional e regional.

Do mesmo modo, para se buscar uma maior efetividade das normas existentes de direito ambiental é igualmente necessário a maior participação da sociedade neste empreendimento e, por várias vezes, as informações não chegam de forma verdadeira e transparente para a população posto que em alguns casos que envolvem danos ao meio ambiente tem-se uma informação manipulada. Com efeito, o papel da pessoa humana adquire destaque na implementação de um meio ambiente sadio em razão do deslocamento de um status até então passivo para compartilhar das responsabilidades na gestão de interesses de toda a coletividade (do NASCIMENTO e FRAGA, 2006). Este status pode ser detectado, no Brasil, através do artigo 225 da Constituição Federal de 1988:

“Todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações”.

Como todo país em desenvolvimento, o Brasil passa por vários problemas sanitários devido ao déficit de redes de captação e estações de tratamento de águas, esgotos e resíduos industriais, danificando o meio ambiente e causando sérios problemas de saúde a população.

As redes de esgoto sanitário e as estações de tratamento têm o objetivo de coletar de forma adequada estes rejeitos evitando o contato humano, tratando os resíduos e diminuindo a carga orgânica a níveis que possa ser liberada nos corpos receptores, os quais se encarregarão de degradar o restante da carga orgânica. Estes níveis têm o padrão de aceitabilidade, para descarte direto ou indireto em corpo receptor, impostos pelos órgãos ambientais competentes a cada estado. Os sistemas de tratamento de águas residuárias através de processos biológicos podem ser aeróbios, utilizando microrganismos que necessitam de oxigênio molecular; anaeróbios, utilizando microrganismos que consomem o substrato na ausência de oxigênio molecular; ou híbridos, utilizando uma mistura dos dois processos (FONTOURA, 2004).

O crescimento industrial e desenvolvimento das cidades têm levado ao projeto, construção e operação de estações de tratamento de águas residuárias mais modernas, trazendo consigo o aumento do tamanho e complexidade destas estações. A pesquisa e o desenvolvimento de maneiras mais efetivas e competitivas de se tratar resíduos está tendo um grande avanço no momento atual; o que pode levar a projetos com alternativas atrativas do ponto de vista ambiental e econômicas principalmente. Todo projeto de estação de tratamento deve conter em sua essência realidade, flexibilidade e operação satisfatória; para que seja durável e realístico (WU, 2003).

Um item importante no estudo de projeto deste tipo é a sua modelagem matemática, que consiste na descrição matemática das características dinâmicas do sistema, com o objetivo de possibilitar através de modelos, projetos em escala real, simulação do comportamento do sistema em diferentes condições de operação, controle e otimização de futuras plantas que utilizem desta tecnologia. Exemplos de tecnologias para tratamento de águas residuárias, através de biotecnologia, são os reatores anaeróbios e aeróbios; entre estes os mais conhecidos são o UASB (upflow anaerobic sludge blanket) e o FBBR (fluidized bed bioreactor). Estes reatores têm como característica a imobilização da biomassa em seu interior, possibilitando um tempo de retenção celular muito superior em relação ao tempo de retenção hidráulica. Em ambas

as tecnologias há a formação de biofilmes, que são comunidades de microrganismos imobilizados conjuntamente numa matriz de substâncias extracelulares de origem microbiana, representam a parte maioritária de toda a vida microbiana, tanto em qualidade como em termos de efetividade. Um biofilme forma-se naturalmente em qualquer superfície sólida em contato com água não esterilizada (XAVIER *et al.*, 2004).

Nos sistemas aeróbios, ocorre somente cerca de 40 a 50% de degradação biológica, com a conseqüente conversão em CO₂. Verifica-se uma enorme incorporação de matéria orgânica como biomassa microbiana (cerca de 50 a 60%), que vem a constituir o lodo excedente do sistema. O material orgânico não convertido em gás carbônico ou em biomassa deixa o reator como material não degradado (5 a 10%). Nos sistemas anaeróbios, verifica-se que a maior parte do material orgânico biodegradável presente no despejo é convertida em biogás (cerca de 70 a 90%), que é removido da fase líquida e deixa o reator na forma gasosa. Apenas uma pequena parcela do material orgânico é convertida em biomassa microbiana (cerca de 5 a 15%), vindo a se constituir o lodo excedente do sistema. Além da pequena quantidade produzida, o lodo excedente apresenta-se via de regra mais concentrado e com melhores características de desidratação (CHERNICHARO, 1997).

Estudos sobre cinética, transferência de massa, microbiologia e hidrodinâmica vem sendo realizados intensamente por vários pesquisadores da área (FONTOURA, 2004; WU, 2003). Bem como, os processos que inibem o crescimento microbiano; que faz com que o reator perca eficiência ao degradar os poluentes presentes. Um importante exemplo deste fenômeno é a repressão catabólica, que ocorre no crescimento bacteriano em múltiplos substratos. O trabalho pioneiro nesta área foi realizado por Monod (1942).

Neste trabalho a indústria de processamento de subproduto de abatedouros de aves foi escolhida como fonte geradora de poluentes a serem biodegradados. Por se tratar de uma indústria de reaproveitamento de dejetos oriundos de abatedouros, esta indústria em seu processo de transformação gera uma quantidade expressiva de águas residuárias; e estas não têm parâmetros adequados para disposição direta em corpos receptores.

O processamento e/ou tratamento dos resíduos efluentes tem sido uma das grandes preocupações da indústria avícola, principalmente em decorrência das restrições que o mercado consumidor vem impondo as questões de meio ambiente e da sua

reutilização. Estes resíduos líquidos são ricos especialmente em proteínas e lipídeos, os quais são os principais responsáveis pelas alterações dos parâmetros de controle ambiental como pH, sólidos totais, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), entre outros. Os lipídeos contidos nesses efluentes, além de representarem uma perda industrial importante, interferem negativamente nos Sistemas de Tratamento de Efluentes (DORS, 2006).

Ribeiro (1999), em sua dissertação de mestrado, estudou as oscilações no desempenho de um reator biológico quando sujeito a choques, seja de carga orgânica, ou de dinâmica de fluxo, para que com isto pudesse encontrar maneiras de controlar tal reator. Em seu trabalho, o autor incorporou um efluente láctico sintético contendo oleato; e após monitoramento de alguns parâmetros conclui que, mesmo com a presença do ácido graxo de cadeia longa o reator teve desempenho sempre acima de 90%.

Dors (2006), em sua dissertação de mestrado, realizou um trabalho visando contribuir para o desenvolvimento de tecnologia para redução da concentração de lipídeos contidos em águas residuárias da indústria avícola, por meio de ação de enzimas, particularmente lípases pancreáticas comerciais.

Rincón *et al.* (2006) desenvolveram uma modelagem cinética do processo de digestão anaeróbia de águas residuárias, oriundas de uma indústria de produção de proteína a base de resíduos avícolas, que demonstrou o comportamento do processo de biodegradação deste efluente. Segundo os autores, este tipo de indústria gera um produto com alto teor de proteína, a baixos custos de produção; porém, gera uma quantidade de águas residuárias da ordem de 20-25 litros/kg de matéria-prima processada. O efluente final é altamente poluente, e caracterizado por baixo pH e altas taxas de DBO e DQO.

Como podem ser observados nestes dois últimos parágrafos, sobre a indústria de subproduto animal de origem avícola, os efluentes gerados tem grande potencial poluidor; e, por este motivo há a necessidade do desenvolvimento de sistemas altamente eficientes e eficazes para despoluir os mesmos, para então somente após purificados sejam despejados ao meio ambiente. Portanto, para que se desvele estes sistemas a ferramenta utilizada foi a modelagem matemática dos processos biotecnológicos, e sua conseqüente otimização.

A modelagem matemática possibilitou o estudo das fases e estágios da utilização do substrato com consórcio de microrganismos, do relacionamento dos microrganismos no ambiente dos múltiplos substratos presentes, a influência dos parâmetros do processo na cinética de utilização do substrato, a repressão catabólica e a otimização dos estágios de utilização completa.

1.3 Objetivos da Pesquisa

Este trabalho teve como foco estudar, através de modelagem matemática e experimentos, a degradação biológica das águas residuárias geradas em uma indústria de subprodutos animais; utilizando a tecnologia de biodegradação. Aplicando para tal diferentes abordagens e modelos matemáticos, que possibilitaram a descrição, mais realística possível, do processo. Para que, com isto, fosse possível estudar a cinética da degradação anaeróbia de um efluente com alta concentração de lipídeos, em particular ácidos graxos totais, ácido acético e ácido oléico; tendo como parâmetro de medida de degradação a demanda química de oxigênio (DQO). Os lipídeos são importantes constituintes da matéria orgânica dos efluentes e, embora existam em concentrações relativamente baixas nos efluentes domésticos, a sua presença nos efluentes industriais é alvo de particular atenção; por exemplo, na indústria de processamento de subprodutos de frigoríficos, que é a fonte geradora do efluente em estudo.

Para desvelar os mecanismos envolvidos, este trabalho tem como objetivo específico a implementação de um algoritmo que possibilita a estimativa dos parâmetros dos modelos cinéticos examinados; tendo como base dados experimentais.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo é apresentado um levantamento dos trabalhos mais importantes na área de biodegradação de efluentes, em sua complexa realidade, e modelagem matemática, os quais serviram de base científica para elucidação dos problemas que surgiram durante o desenvolvimento da pesquisa para esta tese.

2.1 Biodegradação Anaeróbia – Conceitos

O tratamento por biodegradação de águas residuárias, como o próprio nome indica, ocorre inteiramente por mecanismos biológicos. Estes processos biotecnológicos reproduzem, de certa maneira, os processos naturais que ocorrem, em um corpo d'água, após o lançamento de despejos. No corpo d'água, a matéria orgânica carbonácea e nitrogenada é convertida em produtos inertes por mecanismos puramente naturais, caracterizando o assim chamado fenômeno da autodepuração. Em uma estação de tratamento de efluentes os mesmos fenômenos básicos ocorrem, mas com a introdução de tecnologia. Essa tecnologia tem como objetivo fazer com que o processo de depuração se desenvolva em condições controladas.

A generalidade dos processos biotecnológicos pode dividir-se em duas categorias: reações de crescimento microbiano (reações microbiológicas), e reações catalisadas por enzimas (reações bioquímicas ou bio-transformações). Os processos biotecnológicos são usados para a produção de uma vasta gama de produtos com diferentes valores comerciais. Um processo biotecnológico pode então definir-se como aquele em que há uma utilização de microrganismos (fermentos, bactérias, etc.) e/ou enzimas, podendo ter como objetivo a síntese de compostos químicos intracelulares (proteínas) ou extracelulares (antibióticos, álcool), a produção de biomassa (caso da produção de fermento de padeiro), de alimentos (bebidas), de energia (biogás, etanol) ou ainda a despoluição biológica de efluentes (degradação da matéria poluente pelos microrganismos).

O crescimento dos organismos num reator biológico decorre através do fornecimento ao meio líquido de certos nutrientes ou substratos (fontes de carbono, azoto, oxigênio,..., vitaminas, micro nutrientes) na presença de condições ambientais favoráveis (temperatura, pH, arejamento, agitação,...). Um reator biológico é, portanto, um tanque onde ocorre uma ou várias reações biológicas geralmente em meio líquido (FERREIRA, 1995).

Os processos biotecnológicos têm sido largamente utilizados no tratamento de efluentes municipais e industriais, revelando-se, na maior parte dos casos, mais econômicos e eficientes do que os processos físico-químicos. Durante as décadas de 1980 e 1990 o processo de biodegradação assumiu gradualmente um papel importante no tratamento de águas residuais, tornando-se uma alternativa economicamente viável face aos processos tradicionais (CAVALEIRO, 1999).

As vantagens e desvantagens, do processo de tratamento de efluentes, com utilização de tecnologia de biodegradação anaeróbia foi citada por vários pesquisadores (CAVALEIRO, 1999; RIBEIRO, 1999; FONTOURA, 2004 e DORS, 2006). Estas vantagens são listadas a seguir:

a) Vantagens

- Menor produção de biomassa em relação aos processos aeróbios;
- Baixo consumo de energia, redundando custos operacionais menores;
- Baixa demanda de área;
- Produção de metano, o qual é um gás combustível;
- Possibilidade de preservação da biomassa, sem alimentação do reator por vários meses;
- Tolerância a elevadas cargas orgânicas;
- Aplicabilidade em pequenas e grandes escalas;
- Baixo consumo de nutrientes.

b) Desvantagens

- Os microrganismos anaeróbios são susceptíveis à inibição por diversos compostos;
- A partida do sistema pode ser lenta na ausência de biomassa adaptada;
- Alguma forma de pós-tratamento é usualmente necessária para atendimento dos padrões ambientais;
- A bioquímica e a microbiologia da digestão anaeróbia são complexas, e ainda, precisam ser mais estudadas;

- Possibilidade de geração de odores desagradáveis;
- Remoção insatisfatória de nitrogênio, fósforo, e patogênicos.

Os processos de tratamentos de águas residuárias geralmente são compostos por sistemas anaeróbios aliados a outros sistemas de tratamento. Portanto, o avanço das pesquisas dos fenômenos característicos do processo de digestão anaeróbia permitirá o aprimoramento e desenvolvimento de novas tecnologias em unidades de tratamento anaeróbias, otimização de operações e custos, e ainda, a diminuição da área de implantação do sistema.

2.2 Análise do Efluente Líquido Gerado

A quantidade e concentração dos despejos de uma determinada indústria variam dentro de amplos limites, dependendo dos processos de fabricação empregados e dos métodos de controle de despejos. Com isto, a caracterização de efluentes é uma tarefa básica para o equacionamento adequado do tratamento do mesmo. Este ponto gera informações quanto à composição e vazão da água residual, levando em conta as variações ao longo do tempo, em função das atividades responsáveis por sua geração (PEREIRA, 2004).

Estes tipos de efluentes contêm uma DBO e DQO elevadas, grande presença de óleos e graxas, material flotável (gordura), alta concentração de sólidos sedimentáveis e sólidos suspensos, alta concentração de nitrogênio orgânico, presença de sólidos grosseiros e microrganismos patogênicos (SCARASSATI *et al.*, 2003 e RÍNCON *et al.*, 2006).

O alto teor de lipídeos presentes nesses efluentes interfere negativamente no sistema de tratamento de efluentes, além de representar uma perda para a indústria. No tratamento biológico dificultam a sedimentação do lodo, demanda maior tempo de retenção, a operação do reator de biodegradação anaeróbia apresenta diversos problemas operacionais devido à formação de escumas, colmatação de camadas de lipídeos, formação de caminhos preferenciais no leito de lodo e arraste de biomassa, levando a perda de eficiência e até mesmo ao colapso do reator (DORS, 2006 e RÍNCON *et al.*, 2006).

Tabela 01 – Características físico-químicas do efluente da indústria de subproduto animal de origem avícola.

Parâmetros	Valores
Amônia (mgNH ₃ .L ⁻¹)	79,29 ¹
pH	6,35 ¹
Sólido sedimentável (mL.L ⁻¹)	26,00 ¹
Óleos e graxas (mg.L ⁻¹)	2.005,00 ¹
Sólido total (mg.L ⁻¹)	8.390,00 ¹
Sólido total volátil (mg.L ⁻¹)	8.052,00 ¹
Sólido suspenso total (mg.L ⁻¹)	1.966,00 ¹
DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	156.740,00 ²
DBO ₅ (mg O ₂ .L ⁻¹)	8.720,00 ²
Nitrogênio total (mg N ₂ .L ⁻¹)	92,35 ¹
Fósforo total (mg PO ₄ .L ⁻¹)	8,64 ¹

¹Dados da literatura (DORS, 2006)

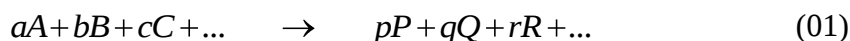
²Dados do efluente real

2.3 Estequiometria da Utilização dos Substratos Complexos

A estequiometria de uma reação é definida como o numero de moles das substâncias que entram num determinado reator, e o numero de moles das substâncias produzidas na reação. A estequiometria envolve a aplicação do princípio da conservação de massa.

O modelo estequiométrico, para digestão anaeróbia, é a base da modelagem cinética a ser utilizada na modelagem da digestão anaeróbia (PONTES e PINTO, 2006).

Generalizando a estequiometria de uma reação, esta pode ser representada pela equação:



Em que: $A, B, C, \dots$ = espécies reagentes;

$P, Q, R, \dots$ = espécies produzidas;

$a, b, c, \dots, p, q, r, \dots$ = coeficientes estequiométricos.

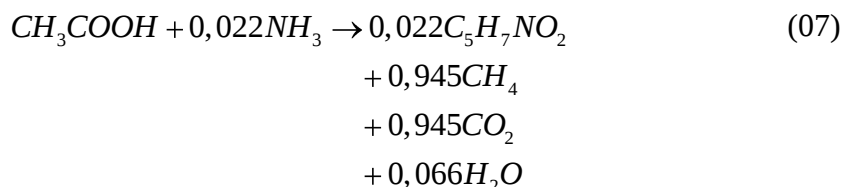
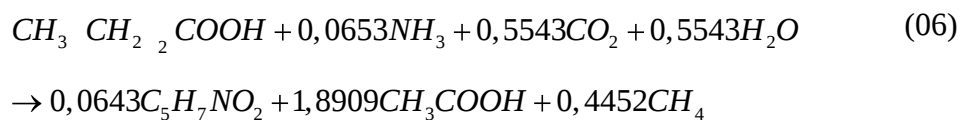
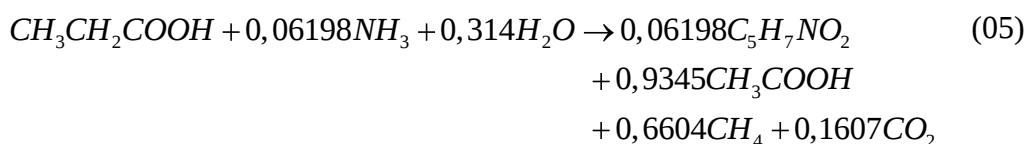
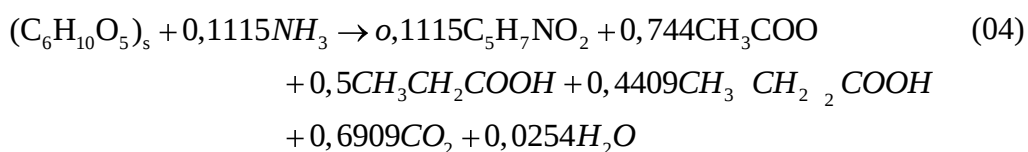
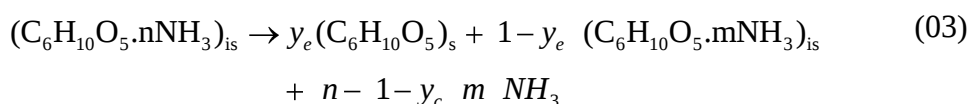
Fixando-se a quantidade de massa por mol de cada reagente e produto envolvido, além do sinal negativo para cada coeficiente estequiométrico dos reagentes e positivo para cada coeficiente estequiométrico dos produtos, a equação pode ser rearranjada:

$$aA + bB + cC + \dots + pP + qQ + rR + \dots = 0 \quad (02)$$

A estequiometria da digestão anaeróbia de efluentes gerados em abatedouros de bovinos foi, primeiramente, descrita na década de 1982 e desenvolvida a partir de

1993, Keshtkar *et al.* (2002). Segundo os autores o modelo cinético distingue cinco diferentes processos: hidrólise do substrato particulado por enzimas extracelulares, consumo de substratos solúveis por bactérias acidogênicas, consumo de ácidos graxos voláteis, e formação de acetato pela degradação de propanoato e butirato, por bactérias acetogênicas, e finalmente, consumo do acetato e geração de metano por bactérias metanogênicas. Que é um resumo dos processos descritos anteriormente por Cavaleiro, 1999; Ribeiro, 1999; Fontoura, 2004 e Dors, 2006.

O modelo cinético, de Keshtkar *et al.* (2002), incluem inibição por ácidos graxos voláteis no passo acetogênico, inibição por amônia livre no passo metanogênico, e inibição por pH em todos os passos biológicos. No modelo, os substratos presentes são representados como unidades de carboidratos solúveis e insolúveis, com fórmula básica $(C_6H_{10}O_5)_s$ e $(C_6H_{10}O_5.NH_3)_{in}$, respectivamente. O modelo, destes autores, é representado pela estequiometria a seguir:



Na reação (03), y_e é a eficiência enzimática e o subscrito representa o material inerte não-biodegradável. Os outros coeficientes, n e m dependem da razão de solubilidade do substrato e do tipo de efluente.

Pontes e Pinto, 2006 propõem em seu trabalho uma estequiometria diferente de Keshtkar *et al.* (2002), na qual há a divisão do processo por população bacteriana presente; o que é apresentado a seguir:

População bacteriana	Estequiometria	
metanogênica acetoclástica	$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$	(08)
fermentação	$C_6H_{12}O_6 + 0,02H_2O \rightarrow 0,34C_2H_5OH + 0,39C_3H_7COOH + 1,31CH_3COOH + 1,14CO_2 + 0,82H_2$	(09)
etanol usado na acetogênese	$C_6H_{12}O_6 + 1,2NH_3 \rightarrow 1,2C_5H_9O_3N + 2,4H_2O$ $C_2H_5OH + H_2O \rightarrow CH_3COOH + 2H_2$ $C_2H_5OH + 0,2H_2O + 0,4NH_3 \rightarrow 0,4C_5H_9O_3N + 2H_2$	(10)
ácido butírico usado na acetogênese	$C_3H_7COOH + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2H_2$ $C_3H_7COOH + 0,4H_2O + 0,8NH_3 \rightarrow 0,4C_5H_9O_3N + 2H_2$	(11)
metanogênica acetoclástica	$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$	(12)
hidrotrófica metanogênica	$H_2 + 0,25CO_2 \rightarrow 0,25CH_4 + 0,5H_2O$ $H_2 + 0,5CO_2 + 0,1NH_3 \rightarrow 0,1C_5H_9O_3N + 0,5H_2O$	(13)

Esta estequiometria, acima, envolve sete substratos e cinco diferentes populações bacterianas. Neste trabalho, de Pontes e Pinto (2006), a formação de resíduo endógeno é adicionada no modelo cinético, e, a inibição pelo pH é suprimida do modelo original, pois os autores mantiveram o pH controlado no efluente.

Batstone *et al.* (2006) realizaram um estudo com modelagem para investigar a transferência de hidrogênio em biofilmes anaeróbios. Em seu trabalho, os autores, tal como os demais (CAVALEIRO, 1999; RIBEIRO, 1999; KESHTKAR *et al.*, 2002;

FONTOURA, 2004 e DORS, 2006), aplicaram o processo de múltiplos passos da digestão anaeróbia para conversão do substrato em metano e dióxido de carbono. Segundo os autores, a fisiologia dos microrganismos dentro destes passos é bem entendida, mas, os mecanismos de interação entre os diferentes grupos têm sido negligenciados em trabalhos anteriores; que é um importante fator de operação do reator e de grande interesse científico. E, partindo deste princípio propuseram a seguinte estequiometria para o processo de digestão anaeróbia de proteínas e gorduras presentes em efluentes industriais:

substrato	estequiometria	
Propionato	$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \rightarrow CH_3COO^- + 3H_2 + HCO_3^- + H^+$	(14)
H_2, HCO_3^-	$3H_2 + \frac{3}{4}HCO_3^- + \frac{3}{4}H^+ \rightarrow \frac{3}{4}CH_4 + 2\frac{1}{4}H_2O$	(15)
Propionato	$CH_3CH_2COO^- + 2HCO_3^- \rightarrow CH_3COO^- + 3HCOO^- + H^+ + H_2O$	(16)
formiato	$3HCOO^- + \frac{3}{4}H^+ + \frac{3}{4}H_2O \rightarrow \frac{3}{4}CH_4 + 2\frac{1}{4}HCO_3^-$	(17)
total	$CH_3CH_2COO^- + \frac{3}{4}H_2O \rightarrow CH_3COO^- + \frac{3}{4}CH_4 + \frac{1}{4}HCO_3^- + \frac{1}{4}H^+$	(18)
H_2	$H_2 + HCO_3^- \rightarrow HCOO^- + H_2O$	(19)

2.4 Fase e Estágios da Utilização dos Substratos Complexos

No tratamento de efluentes há uma interação de diversos mecanismos, alguns ocorrendo, simultaneamente, e outros seqüencialmente. A atuação microbiana principia-se no próprio sistema de coleta e interceptação de efluentes, e atinge seu máximo na estação de tratamento. Nas estações de tratamento de efluentes, ocorre a remoção da matéria orgânica e, eventualmente, também a oxidação da matéria nitrogenada (CHERNICHARO, 1997).

Devido à enorme variedade de caminhos metabólicos disponíveis para a biodegradação anaeróbia, a bioquímica e a microbiologia deste processo de degradação são muito mais complexas do que as de processos aeróbios (RIBEIRO, 1999). De fato, a degradação da matéria orgânica a metano e dióxido de carbono, envolve uma cadeia

seqüencial de caminhos metabólicos, e requer ação combinada e coordenada de diferentes grupos tróficos de bactérias anaeróbias.

Na Figura 01 encontra-se representado um esquema do processo de digestão anaeróbio, sendo possível distinguir pelo menos 7 etapas, as quais podem ser agrupadas em 4 seqüências principais de degradação.

A fase de **hidrólise** (assinalada na Figura 01 com o número 1) consiste na conversão dos biopolímeros (proteínas, hidratados de carbono e lipídeos) nos seus monômeros (aminoácidos, açúcares e ácidos graxos de cadeia longa, respectivamente), através de enzimas extracelulares produzidas por bactérias hidrolíticas (CAVALEIRO, 1999; RIBEIRO, 1999; KESHTKAR *et al.*, 2002; FONTOURA, 2004 e DORS, 2006).

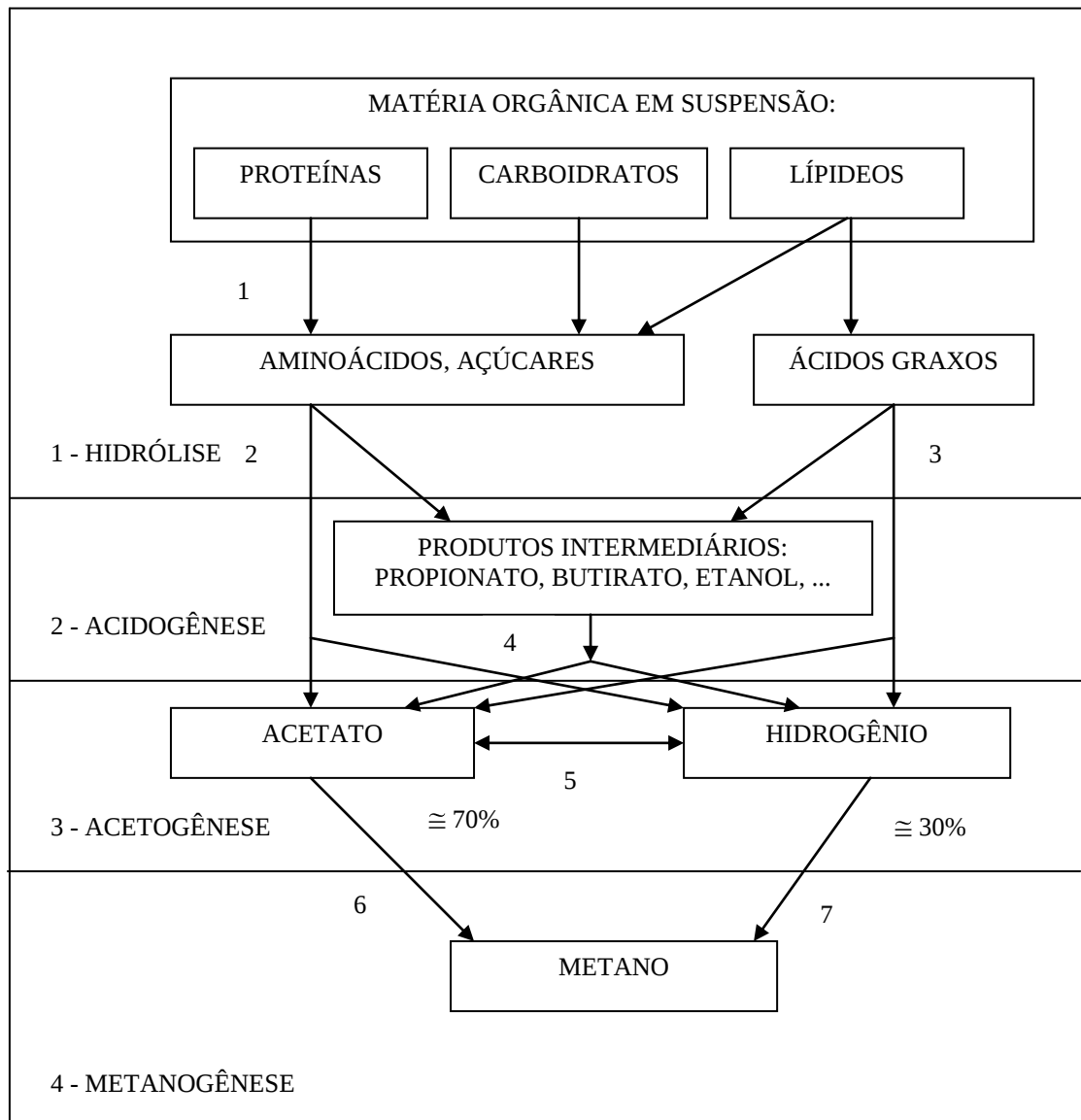


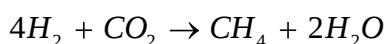
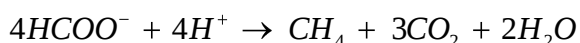
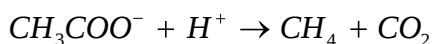
Figura 01 – Esquema do processo de digestão anaeróbia (adaptada de CAVALEIRO, 1999; FONTOURA, 2004 e DORS, 2006). 1. Hidrólise de biopolímeros, 2. Fermentação de aminoácidos e açúcares, 3. Oxidação anaeróbia dos ácidos graxos de cadeia longa, 4. Oxidação anaeróbia dos produtos intermediários a acetato e hidrogênio, 5. Homoacetogênese, 6. Conversão de acetato a metano pelas bactérias acetoclásticas, 7. Conversão do hidrogênio a metanos pelas bactérias hidrogenotróficas.

Na etapa subsequente, **acidogênese**, os produtos da fase anterior são metabolizados no interior da célula, onde são transformados em acetato, produtos intermediários (ácidos graxos voláteis (AGV), álcoois) e hidrogênio; e então são excretados (CAVALEIRO, 1999; RIBEIRO, 1999; KESHTKAR *et al.*, 2002 e FONTOURA, 2004). Como os ácidos graxos voláteis são os principais produtos das bactérias fermentativas, estas são designadas bactérias fermentativas acidogênicas

(DORS, 2006). A população acidogênica representa cerca de 90 % da população bacteriana total dos digestores anaeróbios e apresenta reduzidos tempos de duplicação, por este motivo nunca será a etapa limitante do processo (CAVALEIRO, 1999).

A etapa da **acetogênese** consiste na transformação dos produtos da acidogênese em acetato, dióxido de carbono e hidrogênio, por ação das bactérias homoacetogênicas e das bactérias sintróficas (produtoras de hidrogênio). Estes produtos, da acetogênese, serão utilizados como substrato para produção de metano (CAVALEIRO, 1999; RIBEIRO, 1999; KESHTKAR *et al.*, 2002; FONTOURA, 2004 e DORS, 2006). As transformações acetogênicas realizadas pelas bactérias sintróficas são termodinamicamente desfavoráveis em condições normais, verificando-se que só se tornam exergônicas se a concentração de hidrogênio for da ordem de 10^{-4} atm ou inferior (FONTOURA, 2004).

A etapa final do processo é a **metanogênese**, a qual é muitas vezes o passo controlador da globalidade do processo de digestão anaeróbia (RIBEIRO, 1999; KESHTKAR *et al.*, 2002; e FONTOURA, 2004). Nesta etapa as bactérias são divididas em dois grupos principais, em função de sua afinidade por diferentes substratos: as acetoclásticas que utilizam ácido acético ou metanol na produção de metano e as hidrogenotróficas que utilizam hidrogênio e dióxido de carbono na formação de metano (RIBEIRO, 1999; KESHTKAR *et al.*, 2002; e DORS, 2006). Quando há presença de sulfato no afluente, muitos dos compostos intermediários passam a ser utilizados pelas bactérias redutoras de sulfato, provocando uma alteração dos caminhos metabólicos no reator; o que faz com que as bactérias redutoras de sulfato passem a competir com as bactérias fermentativas, acetogênicas e metanogênicas pelos substratos disponíveis (FONTOURA, 2004 e DORS, 2006). Apresentam-se em seguida algumas das transformações que ocorrem nesta fase:



A conversão de acetato é responsável pela produção de cerca de 70% do metano no processo de degradação anaeróbia, pelo que assume uma importância particular. Por outro lado, as bactérias metanogênicas acetoclásticas representam o elo

mais fraco de toda a cadeia de degradação, no que respeita à sua resistência a condições adversas, tais como choques orgânicos e hidráulicos e presença de substâncias tóxicas (CAVALEIRO, 1999 e RIBEIRO, 1999).

Na Tabela 02, apresentam-se alguns dados cinéticos de bactérias acidogênicas, metanogênicas e globais.

Tabela 02 – Valores típicos dos parâmetros cinéticos das bactérias anaeróbias de acordo com o modelo de Monod (RIBEIRO, 1999).

	$\mu_{\max}$	Y_b	K_s	r_s
	d ⁻¹	g SSV / g DQO	g DQO / L	g DQO / gSSV.dia
Bactéria Acidogênicas (OHPA)	2,0	0,15	0,2	13,0
Bactérias Metanogênicas (Methanosaeta sp.)	0,16	0,05	0,35	2,0
Bactérias Metanogênicas (Methanosarcina sp.)	0,45	0,05	0,037	9,0
Biomassa Anaeróbia (valor global de um digestor)	0,1 – 0,45	0,18	0,1 – 1,4	0,5 – 2,5

Segundo Ribeiro (1999), um reator anaeróbio pode ser comparado a um reator químico, onde ocorrem uma série de transformações complexas influenciadas por fatores ambientais diversos que urge otimizar de modo a obter um bom funcionamento global do sistema. A mesma idéia pode ser observada na pesquisa de Cavaleiro (1999), Batstone *et al.* (2000), Vavilin *et al.* (2002), Henson (2003), Tartakovsky *et al.* (2005) E Dors (2006); estes autores realizaram pesquisas sobre a influência dos fatores ambientais na desempenho da biodegradação anaeróbia.

De acordo com Ribeiro, 1999; Karen *et al.*, 2000; Fontoura, 2004; Bouallagui *et al.*, 2005, a influência de fatores ambientais como pH, temperatura, alcalinidade e presença de nutrientes podem causar grandes mudanças no desempenho do sistema de biodegradação anaeróbia, sendo de extrema importância o controle e monitoramento obtendo assim operações mais otimizadas e possibilitando a identificação da causa de um possível problema.

Lokshina *et al.*, 2000, discute a diminuição da atividade metanogênica causada por uma queda de temperatura, já na fase de acetogênica, foi reportada tendo tanto aumento quanto diminuição a baixa temperatura; e ainda segundo estes autores, este fenômeno foi identificado desde a década de 1960 por outros pesquisadores. Como visto em Cavaleiro (1999), a temperatura afeta a atividade dos microrganismos e, em

menor grau, as constantes de equilíbrio físico-químico do meio, tal como discutido em Lokshina *et al.*, 2000.

Geralmente são consideradas três faixas de temperatura: termófila ($>45^{\circ}\text{C}$), mesófila ($20-45^{\circ}\text{C}$) e psicrófila ($<20^{\circ}\text{C}$) (COATES, 1991). As bactérias metanogênicas apresentam um crescimento máximo na faixa mesófila e na faixa termófila. Quando se opera na faixa psicrófila a digestão de substratos complexos é limitada pela hidrólise, sendo necessário que a fase de arranque seja realizada a uma temperatura mesófila. Conforme Angelidaki *et al.*, 2000, alguns autores citam que o tratamento de frações orgânicas de águas residuárias, geradas em aterro sanitário, operam somente em temperaturas mesófilas; porém tanto em fase laboratorial, quanto em escala industrial, o processo em temperaturas termófilas tem ganho grande atenção para este tipo de efluente; ainda no mesmo trabalho.

Operando a temperatura termófilas obtêm-se maiores taxas de remoção, uma vez que as estirpes termófilas apresentam uma taxa específica de crescimento cerca de 2 a 4 vezes superior (RIBEIRO, 1999 e CAVALEIRO, 1999). Desta forma, torna-se possível a aplicação de cargas mais elevadas, e, este tipo de operação pode tornar-se especialmente interessante para efluentes produzidos a altas temperaturas; o que será o caso de estudo desta tese.

Os microrganismos são altamente sensíveis a variações de pH, embora nem todos os grupos tróficos apresentem o mesmo grau de sensibilidade a este parâmetro. Os diferentes grupos bacterianos têm atividade máxima para valores de pH não muito diferentes. Valores de pH entre 7 e 7.4 são ótimos para bactérias hidrolíticas e acetogênicas, e, pH 6 é ótimo para as bactérias fermentativas. As bactérias metanogênicas apresentam um ótimo de pH entre 6.6 e 7.6 e, uma vez que são normalmente responsáveis pela cinética global do processo e são mais sensíveis a fatores ambientais, geralmente, considera-se esta faixa de pH como apropriada para o funcionamento do processo (RIBEIRO, 1999; CAVALEIRO, 1999; LOKSHINA *et al.*, 2000).

A produção de ácidos voláteis como produtos intermediários no processo de biodegradação anaeróbia podem provocar uma diminuição expressiva do pH do meio, se a alcalinidade do sistema for insuficiente. A alcalinidade é uma medida representativa da capacidade tampão do meio, traduzindo esta a resistência do processo a variações de pH causadas por diferentes agentes. Permite determinar de ante mão qual

a tolerância em ácidos graxos voláteis para que o pH se mantenha na faixa pretendida, e está intrinsecamente relacionada com a estabilidade do processo. Vale ressaltar que quanto maior for a capacidade tampão, maior será a resistência a choques orgânicos.

Muitos são os fatores também exercem influência sobre o processo de biodegradação anaeróbia. Tais como: transferência de massa, capacidade de assimilação de cargas tóxicas, sobrecargas hidráulicas e atividade metanogênica. Portanto, o desenvolvimento de pesquisas, com embasamentos teóricos, práticos e científicos modernos, dos fenômenos característicos de sistemas de biodegradação anaeróbia vem trazendo a luz da ciência humana o aprimoramento de novas tecnologias de tratamento de águas residuárias, otimização nas operações, diminuição de custos de instalação e manutenção, e áreas de instalação das estações de tratamento de efluentes líquidos.

2.5 Modelagem Cinética da Utilização dos Substratos pela Mistura de Microrganismos

A cinética bioquímica estuda as velocidades de transformações que ocorrem em culturas de microrganismos, como: velocidade de utilização de substrato, velocidade de crescimento de biomassa e velocidade de formação de produtos. Muitos são os fatores que podem influenciar a cinética de populações microbianas, tais como: composição, pH, reologia e temperatura do meio ou pelas características multicomponentes, controles internos, adaptabilidade e heterogeneidade das populações celulares (METCALF & EDDY, 1991; TRIGUEIROS, 2008). Segundo Fontoura (2004), além destes fatores, outros fatores de suma importância devem ser citados; os quais são listados a seguir: interações entre a massa celular e o meio como transferência de nutrientes, produtos e calor.

O efetivo controle do tratamento de águas residuais, através de biodegradação, é baseado no conhecimento dos princípios básicos que governam o crescimento dos microrganismos. A mistura de microrganismos ocorre na maioria dos processos de tratamento de efluentes; e o entendimento da complexidade e inter-relação de cada microrganismo com a população biológica é de importante valia para o estudo do processo de biodegradação. A forma e a posição de um microrganismo, em particular, dentro da curva de crescimento depende do substrato e nutrientes envolvidos, e, de todos os outros fatores já mencionados (METCALF & EDDY, 1991).

A modelagem cinética, da utilização de substratos, pode ser desenvolvida de duas maneiras; quando considera a natureza multicomponente da célula e a heterogeneidade da população é chamada de modelagem estruturada e segregada, enquanto modelos cinéticos que ignoram a natureza multicomponente das células e sua heterogeneidade são denominados não estruturados e não segregados (FONTOURA, 2004).

Rauch *et al.*, 1998 desenvolveram um modelo dinâmico para realizar a simulação rápida da remoção de múltiplos substratos através de diferentes espécies bacterianas crescendo em reator biológico. A idéia básica dos autores foi colocar dentro da modelagem os dois principais processos que ocorrem em biofilme: a difusão no substrato e a conversão química. A difusão no substrato relaciona a penetração de uma fração da biomassa ao longo do substrato que ativa a conversão. A conversão é então calculada considerando somente esta fração de biomassa ativada. No ano anterior, Meyerhoff *et al.* (1997), realizaram uma modelagem de mistura de microrganismos aeróbios/anaeróbios co-imobilizados. Segundo os autores, mistura de microrganismos anaeróbios são, via de regra, utilizados no tratamento de águas residuárias; já mistura de microrganismos aeróbios/anaeróbios co-imobilizados são raramente utilizados.

Em Dens *et al.*, 1999 e Karen *et al.*, 2000, encontra-se que um importante fator deve ser incluído em qualquer modelo para prever a taxa de crescimento de microrganismo, a influência da microflora. Dens *et al.*, 1999, dizem que o crescimento do microrganismo como uma cultura pura é substancialmente diferente do crescimento de uma mistura de microrganismo; isto devido às interações microbianas. Estas interações podem ser de natureza sinérgicas ou antagônicas, resultando em realce ou inibição da proliferação, respectivamente. Em particular, as interações antagônicas são de grande interesse na microbiologia de alimentos, pois estas representam um possível mecanismo de controle do nível de patógenos na produção de alimentos. Pelo contrário as de natureza sinérgicas, são amplamente interessantes no tratamento de águas residuárias.

No mesmo ano, Malakar *et al.* (1999), estudaram as interações entre *Lactobacillus curvatus* e *Enterobacter cloacae*. Segundo os autores, em um sistema binário, *L. curvatus* produz ácido láctico quando há o decréscimo do pH no sistema; tornando o pH um fator limitante para o crescimento de ambos os microrganismos. O resultado é que *E. cloacae* atinge a concentração final mais rápido quando comparado

com o seu crescimento em cultura pura. O modelo consiste em uma série de cinco equações diferenciais ordinárias, descrevendo o crescimento, consumo e taxa de produção de ambos os microrganismos.

Cenens *et al.*, 1999, modelaram a competição entre duas bactérias em um sistema de tratamento de efluentes aquosos através de lodo ativado. O modelo, destes autores, primeiro ilustra para um reator contínuo que a coexistência entre as duas bactérias pode ser descritas por um caminho genérico; em seguida o modelo é estendido para descrever o sistema de tratamento através de lodo ativado. As duas taxas de crescimento são descritas através da equação de MONOD. Os autores chegaram à conclusão que seu modelo foi capaz de descrever a coexistência de flocos e filamentos para uma grande variação de taxas de diluição; isto devido a incorporação à teoria cinética da teoria “filamentous backbone”, que explica que para formar o floco, ambas as bactérias estão envolvidas.

O trabalho de Wisniewski *et al.*, 1999, que estuda a remoção de compostos orgânicos em bioreator, sugere que a assimilação de um substrato pode ser descrita simplesmente usando um modelo, no qual os seguintes itens ocorrem: i) a síntese de novos elementos leva ao aumento da biomassa presente (anabolismo) e ii) a energia biológica é possível de ser usada e mantém as células (catabolismo). O consumo de substrato pode ser expresso através de dois parâmetros: quantidade de substrato eliminado por unidade de biomassa para assegurar a síntese de novos elementos e a quantidade de substrato eliminado por unidade de biomassa para assegurar a manutenção do sistema. Com isto, segundo os autores, foi possível antecipar o comportamento cinético dos microrganismos e a desempenho global do processo; onde a idéia básica era voltada para o conceito de manutenção.

Katoh *et al.*, 1999, mostraram a aplicabilidade da utilização de cinética de mistura de microrganismos na produção fermentativa. Neste trabalho a modelagem considerou um sistema de microrganismos onde açúcares, com glucose, são convertidos em ácido láctico através de *Lactobacillus delbrueckii* e o ácido láctico é convertido para poli γ -hidroxibutirato por *Alcaligenes eutrophus* em um fermentador. Ainda neste trabalho, pode ser visto que para a fermentação do ácido láctico, vários modelos foram propostos e o comportamento dinâmico simulado. Já a modelagem do cultivo do *A. eutrophus*, foi reportado a um número limitado de trabalhos. A taxa do crescimento específico do *A. eutrophus*, ocorre pela inibição do substrato e a limitado pela fonte de

nitrogênio. A taxa de produção do poli γ -hidroxibutirato, ocorre pelo fato de que poli γ -hidroxibutirato é formado quando a fonte de nitrogênio diminui. Logo, a atenção deve ser dirigida na limitação pelo nitrogênio. Se este nutriente for diminuindo, poli γ -hidroxibutirato é acumulado, mas o crescimento celular para nesta condição e a produtividade pode ser limitada.

No trabalho de Karen *et al.*, 2000, é possível encontrar nove modelos cinéticos para o crescimento microbiano de misturas de microrganismos, apresentados de acordo com sua complexidade. O trabalho destes pesquisadores é focado na produção de alimentos; pois nos dizeres dos mesmos “*a predição microbiológica é um domínio emergente no qual conhecimento biológicos e matemáticos são combinados para o desenvolvimento de modelos para predição da proliferação microbiana em alimentos*”. Sobre modelagem de mistura de microrganismos os autores são claros; para se avaliar o potencial de um novo modelo, ou de um existente, para uma aplicação particular, a especificação apropriada das exigências do modelo é um pré-requisito. O ponto forte deste trabalho é a análise gráfica realizada, a descrição dos princípios básicos e definições da metodologia. Por exemplo, as representações de todas as soluções em um plano de fase são apresentadas para os modelos mencionados. Tornando este trabalho uma ótima referência bibliográfica.

A Tabela 03 demonstra os nove modelos, estudados no trabalho de KAREN *et al.*, 2000, para representação cinética da mistura de microrganismos.

Tabela 03 – Modelos de crescimento de mistura de microrganismos (adaptado de KAREN *et al.*, 2000).

Modelo	Função	Referências
1	$\frac{dN_1}{dt} = N_1(r_1 - \alpha_{12}N_2); \frac{dN_2}{dt} = -k_2N_2 + r_1N_1$	McLean & Nowak (1992)
2	$\frac{dN_1}{dt} = N_1(r_1 - \alpha_{12}N_2); \frac{dN_2}{dt} = N_2(-k_2 + \alpha_{21}N_1)$	Dubois (1972)
3	$\frac{dN_i}{dt} = \frac{r_i N_i}{K_i} (K_i - N_i - \alpha_{ij}N_j)$	Lotka (1956), Volterra (1931)
4	$\frac{dN_i}{dt} = \frac{r_i N_i}{K_i} (K_i - N_i - \alpha_{ij}N_j - \beta_j N_j^2)$	Ayala <i>et al.</i> , (1973)
5	$\frac{dN_i}{dt} = \frac{r_i N_i}{K_i} (K_i - N_i - \alpha_{ij}N_j - \beta_j N_j^2)$	Ayala <i>et al.</i> , (1973)
6	$\frac{dN_i}{dt} = \frac{r_i N_i}{K_i} (K_i - N_i - \alpha_{ij}N_j - \delta_j (1 - \exp(-\gamma_j N_j)))$	Ayala <i>et al.</i> , (1973)
7	$\frac{dN_i}{dt} = \frac{r_i N_i}{K_i^{\theta_i}} \left(K_i^{\theta_i} - N_i^{\theta_i} - \frac{\alpha_{ij} N_j}{K_i^{1-\theta_i}} \right)$	Ayala <i>et al.</i> , (1973)
8	$\frac{dN_i}{dt} = \frac{r_i N_i}{\ln K_i} \ln K_i - \ln N_i - \alpha_{ij} \ln N_j$	Coleman & Gomatan (1972)
9	$\frac{dN_1}{dt} = R_1 N_1 \left[\frac{l_{O1}}{N_1 + \beta N_2} + \frac{I_{E1}}{N_1} - \gamma_{11} N_1 - \gamma_{12} N_2 - C_1 \right]$ $\frac{dN_2}{dt} = R_2 N_2 \left[\frac{\beta l_{O2}}{N_1 + \beta N_2} + \frac{I_{E2}}{N_2} - \gamma_{22} N_2 - \gamma_{21} N_1 - C_2 \right]$	Schoener (1976)

No ano anterior, Dens *et al.* (1999), como já mencionado, desenvolveram um protótipo de modelo para crescimento de mistura de microrganismo; modelo este que é apresentado a seguir:

$$\frac{dN_1}{dt} = \mu_{\max 1} \frac{Q_1}{1 + Q_1} \frac{N_1}{N_{\max 1}} (N_{\max 1} - N_1 - \alpha_{12} N_2) \quad (20)$$

$$\frac{dN_2}{dt} = \mu_{\max 2} \frac{Q_2}{1 + Q_2} \frac{N_2}{N_{\max 2}} (N_{\max 2} - N_2 - \alpha_{21} N_1) \quad (21)$$

$$\frac{dQ_1}{dt} = \mu_{\max 1} Q_1 \quad (22)$$

$$\frac{dQ_2}{dt} = \mu_{\max 2} Q_2 \quad (23)$$

Neste trabalho os autores também realizam uma análise gráfica, através de representações de todas as soluções em um plano de fase; porém, as equações (22) e (23) são resolvidas analiticamente, e os resultados incorporados às equações (20) e (21) e com este subterfúgio o plano de fase é construído.

O que se pode observar, até o momento, é que todos os autores partem do modelo desenvolvido por Lotka (1956) e Volterra (1931), e deste partem para melhorias, ou até mesmo aumento de complexidade do modelo cinético para representar o crescimento de mistura de microrganismos.

Seguindo o levantamento, cronológico, do estado da arte de modelagem cinética de crescimento microbiano com mistura de microrganismo, Tohyama *et al.* (2002), desenvolveram um modelo matemático que investiga, em mistura de microrganismos, quando a produção metabólica de um microrganismo é assimilada pelo outro. Neste trabalho, o modelo desenvolvido foi utilizado na produção de poli γ -hidroxibutirato, tal como o trabalho de Katoh *et al.*, 1999; a diferença fica por conta da utilização de *Ralstonia eutropha*, ao invés de *Alcaligenes eutrophu*, no momento da conversão do ácido láctico em poli γ -hidroxibutirato. O modelo descreve o efeito das concentrações de glucose, ácido láctico, oxigênio dissolvido e NH_3 no comportamento dinâmico em ambos os microrganismo; e através do mesmo, foi possível encontrar a condição ótima de operação.

Cornu *et al.* 2002, estudaram com modelagem cinética de crescimento microbiano, em mistura de culturas, as causas do super-crescimento de *Listeria innocua* no enriquecimento de sopas projetado pelo isolamento de *Listeria monocytogenes*; e concluíram que isto ocorre devido a dois fatores principais: i) o crescimento vantajoso da *L. innocua* sobre a *L. monocytogenes*, ii) a inibição da *L. monocytogenes* pela *L. innocua*, resultando na produção de compostos inibitórios. Segundo os autores, todos os

modelos são derivados do modelo de crescimento logístico com atraso, por exemplo, com um ponto de ruptura na transição entre a fase lag e a fase exponencial.

De acordo com Marazioti *et al.* 2003, por causa da eutroficação, deterioração da qualidade de água e risco potencial a saúde humana, as várias formas de nitrogênio (amoníaco, nitrito e nitratos) devem ser removidas de águas de consumo e águas residuais. A remoção biológica do nitrogênio é realizada pela combinação de dois processos: nitrificação e desnitrificação. Processos estes, segundo os autores, com vários estudos de cinética biológica; que variam de grau de complexidade. No entanto, poucos destes estudos são realizados com sistema de mistura de população; devido às dificuldades geradas através das interações entre várias espécies microbianas e substratos. Sendo assim, o trabalho destes autores, foi focalizado no estudo das características dinâmicas que uma mistura de microrganismos definidos, *Pseudomonas denitrificans* e *Bacillus subtilis*, têm no processo. Como conclusão, com a utilização da modelagem proposta, os autores foram capazes de racionalizar (otimizar) um novo processo de tratamento de efluentes; mais eficiente e mais barato.

No mesmo ano, Witten e Richardson (2003), descreveram através de modelagem cinética a competição de três espécies de microrganismos por quatro substratos em ruminantes. Conforme os autores, o sistema digestivo de ruminantes contém um diverso e abundante ecossistema natural de microrganismos. São mais de 200 espécies de bactérias e 20 espécies de protozoários; e que o consórcio destes é vital para a digestão e conversão de alimentos em energia, da forma de ácidos graxos leves e nitrogênio, em forma de proteína microbiana para os hospedeiros. As interações entre microrganismos, nestes ruminantes, são complexas e, ainda, não compreendidas na sua totalidade. Neste estudo, foi possível detectar uma ampla faixa de condições onde todas as espécies coexistem. Ainda, que com o aumento da taxa de diluição de alimentação, a população microbiana apresenta um comportamento caótico; isto é muito importante devido levar ao conhecimento de que um simples alimento pode se apresentar como inibidor. A análise das bifurcações realizadas pelos autores, mostra que um nível trófico extra e quando todas as espécies competem por substrato pode levar ao mesmo comportamento; apesar da coexistência das três espécies. Fator identificado como resultado da taxa de diluição, também.

No ano seguinte, Pilyugin *et al.* (2004), realizaram um estudo da estabilidade de culturas mistas de microrganismos. Os autores investigaram a influência de uma

enzima periférica, a qual cataboliza o substrato para dar estabilidade à mistura de microrganismos. E, mostraram que, sob condições estacionárias, um aumento da concentração de um substrato inibe a utilização de outro. O critério de coexistência foi desenvolvido, pelos autores, através de curvas de consumo e crescimento para cada espécie na competição. Segundo o trabalho deles, expressando o critério de estabilidade em termos de propriedades intracelulares, o modelo estabelece um ponto de ligação entre ecologia e biologia molecular.

Pommier *et al.* (2005), modelaram o crescimento dinâmico com interação de mistura de culturas; tendo como caso de estudo o amensalismo. Os autores dizem que um modelo deve prever as interações entre os microrganismos; tais como interações nas quais há contato físico, pois afeta ambos, haverá mutualismo se a coexistência é proveitosa para ambos, competição se ambos estiverem desenvolvendo penalidades pela coexistência. E, comensalismo se um tiver seu crescimento servido pela presença do outro, e amensalismo se o crescimento de um for restringido pela coexistência.

Hekmat *et al.* (2006), estudaram a cinética de multi-espécies, para tratamento de gases residuais. Contudo, segundo os autores, a biodegradação de misturas de compostos orgânicos voláteis, por mistura de microrganismos, é usualmente acompanhada de acúmulo de produtos intermediários; formados como subprodutos do processo. O modelo proposto, foi simplificado da seguinte forma: i) duas distintas espécies estão presentes na degradação e ii) dois distintos substratos existem; ainda como forma de simplificação, é assumido que os poluentes degradáveis são de fácil utilização como substrato enquanto os saprófitos são somente utilizados para mineralizar o carbono secundário. Ambos poluentes são sujeitos à morte endógena e inativação. As interações observadas foram proto-cooperação e competição, e, também foi observado uma fração de 30% das células inativas.

Em sua grande maioria, os trabalhos partem do destacado trabalho de Monod em fermentação alcoólica de açúcares em sistemas alimentados continuamente, que é resumido em três equações básicas: 1) para a velocidade de crescimento microbiano, na qual esta velocidade é proporcional à velocidade de utilização de substrato; 2) a velocidade de crescimento de microrganismos é proporcional a concentração dos mesmos e depende da concentração de substrato e 3) devido a atividade anabólica, há também o decaimento relacionado à morte de células vivas. E, destas, em conjunto com o trabalho de Lotka (1956) e Volterra (1931); sugerem modelos de cinética microbiana

com grau de complexidade variando de acordo com os substratos a serem degradados, microrganismos presentes na mistura de culturas, condições ambientais, entre outros fatores que afetam direta ou indiretamente o processo ao qual o modelo deve descrever seu comportamento.

Fontoura (2004), diz que em algumas ocasiões pode ocorrer inibição do crescimento microbiano por compostos sintéticos. E, que nestes casos a taxa específica de crescimento de microrganismos alcançará um máximo e depois declinará, devido ao aumento da concentração de substrato. Portanto, a equação de Monod não é adequada para representar este comportamento, visto que ela não prevê esta inibição de crescimento pelo substrato.

Por este motivo, entre outros, é de grande importância o conhecimento de outras formas representativas da taxa de crescimento microbiano. A Tabela 04, a seguir, apresenta algumas destas taxas.

Tabela 04 – Sumário das equações da taxa de crescimento microbiano para substratos únicos (adptado de TSUMDE *et al.*, 2002)

número	Modelo	Taxa específica de crescimento
1	Monod	$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S}$
2	Haldane	$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}}$
3	Edwards	$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S} \frac{1}{1 + \frac{S^2}{K_i}}$
4	Monod com metabolismo endógeno	$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S} - k_c$
5	Haldane com metabolismo endógeno	$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S} \frac{1}{1 + \frac{S^2}{K_i}} - k_c$

Tabela 05 – Sumário das equações da taxa de crescimento microbiano para múltiplos substratos (adptado de TRIGUEIROS, 2008)

número	Modelo	Taxa específica de crescimento
1	Limitação por múltiplos substratos	$\mu = \frac{\mu_{\max} S_1 S_2}{Ks_1 + S_1 Ks_2 + S_2}$
2	Inibição Não-Competitiva	$\mu = \frac{\mu_{\max} S_i}{\left(Ks_i + S_i + S_j \left(\frac{Ks_i}{Ks_j} \right) + \frac{S_i S_j}{Ks_j} \right)}$
3	Inibição Acompetitiva	$\mu = \frac{\mu_{\max} S_i}{\left(Ks_i + S_i + \frac{S_i S_j}{Ks_j} \right)}$
4	Inibição Competitiva	$\mu = \frac{\mu_{\max} S_i}{\left(Ks_i + S_i + S_j \left(\frac{Ks_i}{Ks_j} \right) \right)}$
5	Modelo de Haldane com metabolismo endógeno	$\mu = \frac{\mu_{\max} S_i}{Ks_i + S_i + S_j I_{ji}}$

2.6 Efeito da repressão catabólica sobre referido substrato

O efluente gerado na indústria de subproduto animal, neste caso de origem avícola, tem grande presença de lipídeos; que é caracterizada por óleos, graxas, gorduras e ácidos graxos livres e que, juntamente com proteínas e carboidratos, compõem os principais compostos orgânicos de águas residuárias desta indústria. Tornando o efluente uma fonte de mistura de substratos a serem degradados.

A modelagem clássica de Monod, que diz que a velocidade de crescimento de microrganismos é proporcional à velocidade de utilização de substrato, não traz subsídios matemáticos suficientes para descrever a dinâmica de crescimento de microrganismos na presença de vários substratos. Desta forma, há necessidade de se obter conhecimento, científico e matemático, para modelar esta dinâmica.

Kroumov (1999) diz que o interesse pelo desenvolvimento de modelos descrevendo o processo de utilização de múltiplos substratos tem aumentado significativamente no meio científico, e além deste processo, também o

correspondente mecanismo regulatório responsável pelo crescimento *diáuxico*. Fenômeno este que pode envolver a utilização seqüencial ou simultânea dos substratos presentes (TURNER e RAMKRISHNA, 1986; BALOO e RAMKRISHNA, 1991a; BALOO e RAMKRISHNA, 1991b; KROUMOV, 1999; PATNAIK, 2000). O crescimento *diáuxico* é caracterizado, segundo Narang (2006), pelo aparecimento de duas fases de crescimento exponencial separados por uma fase de retardo chamada retardo *diáuxico*.

Microrganismos crescendo em um meio com múltiplos substratos apresentam diferentes, e variadas, preferências por vários componentes deste meio (PATNAIK, 2000). Esta preferência dependerá das condições de operação e os substratos podem ser utilizados seqüencialmente ou simultaneamente; às vezes, os microrganismos podem variar sua preferência entre substratos e/ou utilização seqüencial ou simultânea. Estes aspectos tornam a modelagem matemática, de crescimento de microrganismos em um meio de múltiplos substratos, extensamente dificultosa. Baloo e Ramkrishna (1991)a e Baloo e Ramkrishna (1991)b discutem que o modelo de Monod descreve bem o crescimento de microrganismos e taxa de consumo de um substrato sob condições estacionárias; porém, ao aplicar este modelo com a variação de ambiente, o modelo falha para descrever o estado transiente do processo. Segundo os autores, o motivo principal da existência desta anomalia é causado pela regulação metabólica, na qual o controle de todas as reações e funções microbianas não é incorporado na descrição do crescimento microbiano.

Na década de 1986, Turner e Ramkrishna (1986) já realizavam estudos sobre crescimento de microrganismos na presença de múltiplos substratos. Os autores fizeram uma revisão do trabalho de Kompala e colaboradores, no qual foi discutido um modelo cibernético para o crescimento de microrganismos na presença de múltiplos substratos. Modelo, este, capaz de simular o crescimento *diáuxico*, em um grupo de cultura, presumindo que os microrganismos maximizavam sua taxa de crescimento total a cada instante. O modelo, de Kompala e colaboradores, foi baseado em equações de balanço para a enzima chave, substratos e biomassa. Turner e Ramkrishna (1986) simularam, com este modelo, o crescimento microbiano com presença de dois

substratos; e mostraram que depois de um momento inicial transiente apenas um único estágio estacionário era atingido. Os autores fizeram uma modificação no modelo original de Kompala e colaboradores. Esta modificação foi feita através da incorporação, na expressão da taxa da enzima chave, de um termo de contribuição de indução para a síntese da enzima e outro termo de contribuição constitutiva. Com estas modificações, a simulação mostrou a presença de duas fases estacionárias na concentração celular. Isto aconteceu devido à presença de um número suficiente de enzimas, devido a incorporação do termo de contribuição constitutiva, para consumir o substrato adicional; e com isto o novo estágio estacionário foi estabelecido.

Os mecanismos regulatórios, que causam as preferências microbianas por substratos e/ou consumo destes sequencialmente ou simultaneamente, foi aplicado por Kroumov (1999), para desenvolver um modelo para utilização de múltiplos substratos (celobiose e xilose) por *Ruminococcus albus*. O modelo descreve os mecanismos regulatórios do processo de indução-repressão avaliando os caminhos metabólicos e mudanças de atividade na enzima chave, a qual é considerada como o passo de controle para a utilização do substrato preferível (xilose). O autor discute em seu trabalho os possíveis mecanismos pelos quais a celobiose afeta a utilização de xilose. Em um dos casos, pode ser que a celobiose inibe, através de competição, com a xilose, pelo sitio ativo da enzima responsável pelo transporte ou catabolismo destes açúcares. Por outro lado, o autor diz que a celobiose pode reprimir a formação da enzima chave requerida para o catabolismo da xilose. Em termos conclusivos, o controle da utilização de xilose por repressão catabólica, em nível genético, foi a hipótese mais provável para descrever o comportamento da celobiose na utilização da xilose. O aparecimento de uma segunda fase log, em todas as simulações, de acordo com o autor, é manifestado pela repressão da xilose.

Casasús *et al.* (2005) desenvolveu um modelo para simular o crescimento *diáuxico* da bactéria denitrificante. Os processos incluídos no modelo são: crescimento aeróbico de biomassa heterotrófica, crescimento anaeróbico de biomassa heterotrófica, deterioração de biomassa, taxa de síntese de oxigenase (enzima associada com crescimento aeróbico), taxa de síntese de reductase (enzima associada com crescimento anaeróbico), e deterioração da

oxigenase e reductase. O modelo destes autores, como já discutido em Turner e Ramkrishna (1986), mostrou o aparecimento de duas fases de crescimento exponencial separados por uma fase de retardo. A diferença, neste caso, foi o emprego da modelagem de crescimento *diauxi* não na presença de dois substratos, mas na presença de duas condições diferentes de operação no mesmo sistema; uma aeróbica e outra anaeróbica. O que corrobora com a interpretação de Patnaik (2000) e Narang (2006) sobre o crescimento *diauxi*.

Aggelis *et al.* (2005) estudam uma extensão da repressão catabólica feita do nível genético para o nível de comportamento do predador chave. A modelagem mostra que quando uma população chave tem vantagens competitivas sobre um predador (pelo uso de um substrato em comum), o mecanismo de repressão catabólica favorece a população chave; o que foi citado também por Vayenas *et al.* (2005). Quando o predador tem vantagens competitivas a baixas concentrações de substrato e a população chave em altas concentrações de substrato, a introdução do mecanismo de repressão catabólica no modelo outra vez favorece a população chave, enquanto a região de coexistência é dramaticamente reduzida. Inversamente, quando a população chave tem vantagens competitivas a baixas e o predador a altas concentrações de substrato, o domínio da população chave e o estado de coexistência podem ser favorecidos pelo mecanismo de repressão catabólica. Isto levou os autores a concluir que, o controle através de repressão catabólica favorece o domínio da população chave, e, sob certas circunstâncias, a coexistência de ambos predadores e população chave.

O trabalho de Narang (2006) vem solidificar todas estas definições sobre crescimento *diáuxico* e efeitos do mecanismo de repressão catabólica. Ele contribui no sentido de explicar, com bases mais fortes, a fase de retardo *diáuxico*; definindo-a como sendo o tempo requerido pelas células para configurar as enzimas periféricas para níveis suficientemente altos da população chave. E, após esta fase, haverá o consumo do substrato em excesso. Ainda, diz que, o fenômeno de crescimento de múltiplos substratos é um paradigma do mecanismo pelo qual a expressão dos genes é controlada. Assim, tem repercussões importantes sobre o problema de desenvolvimento, no qual há o interesse em controlar a organização espaço-temporal da expressão do

gene em desenvolvimento de organismos. Isto tem implicações profundas em processos biotecnológicos.

2.7 Uso de modelos matemáticos para estudar o desenvolvimento de biofilmes

Os biofilmes, definidos como comunidades de microrganismos imobilizados conjuntamente numa matriz de substâncias poliméricas extracelulares de origem microbiana, representam a parte maioritária de toda a vida microbiana, tanto em quantidade como em termos de efetividade. Um biofilme forma-se naturalmente em qualquer superfície sólida em contato com água não esterilizada. Estas estruturas, biofilmes, têm importância em várias atividades. Estações de tratamento de águas ou efluentes removem organismos patogênicos e reduzem a quantidade de matéria orgânica na água, ou efluente, através de interação com biofilmes.

Existem dois tipos de distintos de problemas associados com a degradação anaeróbia de lipídeos: problemas físicos e problemas metabólicos. Os primeiros relacionam-se com a acumulação dos lipídeos nos agregados de biomassa, tornando-os leves, flutuantes e sujeitos a serem arrastados para fora do reator. O que liga fortemente a análise cinética do processo como um todo ao desenvolvimento de biofilmes dentro do reator. Os problemas metabólicos relacionam-se com a idéia aceita durante anos de que lipídeos são fortemente inibidores da atividade metanogênica. O problema físico foi resolvido em alguns casos com recirculação da biomassa, reduzindo o “washout”. O problema de inibição pelo substrato (lipídeos) pode ser resolvido, segundo pesquisadores portugueses, utilizando-se reatores bateladas para o desenvolvimento da degradação destes ácidos. O que torna o processo altamente eficiente na mineralização destes a metano. Sendo observado que, ao contrário do que era aceito, os lipídeos podem ser eficientemente mineralizados a metano, desde que se apliquem as condições apropriadas (FONTOURA, 2004; PEREIRA *et al.*, 2004 e 2005; CAVALEIRO *et al.*, 2007^{1,2}; SOUSA *et al.*, 2007; CIRNE *et al.*, 2007; CAVALEIRO *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2009).

Estudos sobre cinética, transferência de massa, microbiologia e hidrodinâmica vem sendo realizados intensamente por vários pesquisadores da

área (FONTOURA, 2004; WU, 2003; SHIGEMATSU *et al.*, 2006; CAVALEIRO *et al.*, 2007^{1,2}; SOUSA *et al.*, 2007; CIRNE *et al.*, 2007; CAVALEIRO *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2009). Bem como, os processos que inibem o crescimento microbiano; que faz com que o reator perca eficiência ao degradar os poluentes presentes. Um importante exemplo deste fenômeno é a repressão catabólica, que ocorre no crescimento bacteriano em múltiplos substratos. O trabalho pioneiro nesta área foi realizado por Monod (1942). Desde então, vários pesquisadores têm realizado pesquisas e observado fenômeno similar; a palavra de ordem é controlar este fenômeno para que o processo seja o mais efetivo e eficaz possível (CIRNE *et al.*, 2007; CAVALEIRO *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2009).

Xavier *et al.* (2003) dizem que são numerosas as vantagens de uma célula bacteriana se encontrar contida num biofilme, notoriamente no que diz respeito à proteção contra agentes agressivos; além de resistência a desinfetantes e antibióticos. Ainda que, a maioria das características atribuídas ao crescimento microbiano em biofilmes pode ser explicada através de fenômenos de transferência. Mais do que isto, toda a transferência se dá através de difusão, um processo lento. Fato este agravado por limitações difusionais; em agregados microbianos espessos as distâncias difusionais são grandes o suficiente para que o transporte de solutos de e para as células interiores se torne lento em comparação com as cinéticas de bioprocessos dos microrganismos. Nestas condições formam-se gradientes de solutos no biofilme, e a transferência de massa torna-se num processo limitante para os bioprocessos.

No ano anterior, van Loosdrecht *et al.* (2002) já diziam que a estrutura dos biofilmes recebeu recentemente maiores atenções. Em acordo com Xavier *et al.* (2003), estes autores dizem que o desenvolvimento de biofilmes depende da transferência de substrato, bem como de fenômenos biológicos, tais como o crescimento dos microrganismos e conversão do substrato. E, que o desenvolvimento é fortemente influenciado pela variação dos fatores externos, pois, a formação do biofilme depende primariamente das interações entre transporte de massa e processos de conversão. Quando um biofilme é fortemente limitado pela difusão, ele tende a se tornar homogêneo e compacto.

Quando há grandes forças hidrodinâmicas envolvidas, o biofilme pode sofrer erosões; ao contrário, fracas forças hidrodinâmicas, o biofilme tende a ser mais poroso. O que segundo os autores, traz a estrutura dos biofilmes dificuldades de representação matemática.

Segundo Perez *et al.* (2005)a, a operação de um reator com biofilme para nitrificação foi bem caracterizada sob condições de regime estacionário; porém, há interesse no conhecimento da dinâmica do sistema. Para, que com isto, se possam identificar os distúrbios ocorridos sob mudanças de condições de operação. O modelo, dos autores, foi aplicado em simulações e controle da concentração de nitrito; pois, este é um composto não desejado. Os autores dizem, em acordo com van Loosdrecht *et al.* (2002) e Xavier *et al.* (2003), que biofilmes são estruturas complexas, nas quais processos químicos e biológicos ocorrem simultaneamente; e que a modelagem de biofilmes leva a melhora do conhecimento destes sistemas. O modelo desenvolvido assumiu que o biofilme é uma estrutura de biomassa inerte, e a biomassa ativa foi mantida na área externa da estrutura. Também foi assumido que a espessura do biofilme é pequena o suficiente, para que se possa negligenciar qualquer possibilidade de limitação de difusão no biofilme. Ou seja, cada n-componente tem taxa de transferência, entre a fase líquida e biofilme, é igual a taxa de reação global no biofilme. O crescimento do biofilme é produzido pelo crescimento da biomassa, e seu acúmulo na biomassa inerte, aumentando desta forma a fração sólida do leito. Os autores mostraram a existência de heterogeneidade na concentração dos microrganismos através do leito; e concluíram que isto foi causado pelas oxidações biológicas de nitrificação, nitrificação e nitratação.

Perez *et al.* (2005)b, iniciam seu trabalho com os dizeres “*a modelagem de biofilmes é considerada como um subjetivo complexo matemático*”. E, profetizam, que somente são utilizados modelos cinéticos de ordem zero para a equação reação-difusão. Neste trabalho, eles avaliam modelos com soluções analíticas para equações de zero e primeira ordem, como base para descrever o estado estacionário de reator de biofilme. O sistema é considerado como simples, primeiramente, e como múltiplas espécies envolvidas no biofilme. Pois, conforme os autores, se o modelo cinético de ordem zero é suficiente para descrever as conversões no biofilme, no entanto,

para projetos grandes desvios podem ocorrer. O modelo pode ser descrito, genericamente, como um sistema de três fases separadas, o biofilme, fase gasosa e fase líquida. Os substratos são adicionados no reator pelo fluxo do gás ou do líquido. De acordo com os autores, se a concentração do substrato, o modelo cinético de ordem zero pode ser usado, caso o interesse seja calcular o tamanho do reator; ao contrário, se há interesse em descrever o perfil da concentração para um dado reator o desvio é muito grande com este modelo. Pois, os valores em sistemas microbianos são diretamente influenciados pelos parâmetros cinéticos.

Khoyi e Yaghmaei (2005) simularam a competição entre dois microrganismos, em um reator de biofilme, baseado em diferentes modelos de crescimento. Estes modelos foram utilizados para descrever o crescimento dos microrganismos ao utilizarem um substrato inibitório, o efeito da espessura do biofilme na concentração dos microrganismos também foi discutido. Estes autores, dizem que o comportamento qualitativo do reator de biofilme pode ser caracterizado em quatro regiões, dependendo da concentração do substrato alimentado, da taxa de diluição e cinética de crescimento. Na primeira região, ambos microrganismos são diluídos no reator de biofilme, na região dois o microrganismo B é diluído, na região três somente o microrganismo A é diluído, já na região quatro ambos microrganismos coexistem. No modelo há três considerações: i) o biofilme foi assumido com espessura constante e uniforme, ii) o crescimento dos dois microrganismos, os quais utilizam um substrato em comum, é expresso por um dos modelos cinéticos (Aiba, Andrews, Haldane ou Tessier) com um termo especial de limitação, e independência entre os microrganismos, iii) a difusão no substrato, o movimento dos microrganismos, e biomassa com concentração baixa e continua foram expressos por equações da lei de Fick. Com isto, os autores chegaram a algumas conclusões em suas simulações (realizadas para quatro casos): a coexistência dos microrganismos foi observada para os casos 2-4 para todos os modelos cinéticos, exceto para o modelo de Tessier no caso 4, onde somente o microrganismo A sobreviveu; o caso 1 (para todos os modelos cinéticos) não foi observado a coexistência; somente o microrganismo A sobreviveu. Prosseguindo, os autores dizem que foi possível obter resultados

realísticos com o modelo para três espessuras diferentes de biofilme. E, que estes resultados dependem dos parâmetros assumidos no modelo, da espessura do biofilme e das condições de operação, em especial a taxa de diluição. O que só vem a corroborar com os trabalhos de Rajagopalan *et al.* (1997), van Loosdrecht *et al.* (2002), Perez *et al.* (2005)a e Perez *et al.* (2005)b.

O trabalho de Fouad e Bhargava (2005) foi direcionado para o estudo do comportamento do biofilme, no estado estacionário, em reatores de lodo ativado. Estes autores utilizaram um modelo derivado do modelo cinético de Monod e expressões difusionais da lei de Fick, e mais, como outros autores (KHOYI e YAGHMAEI, 2005) adicionaram ao modelo conceitos capazes de descrever o crescimento de dois tipos de microrganismos, a competição entre eles e a limitação pelo substrato. As conclusões não fogem daquelas já mencionadas, tal como inibição pelo substrato, crescimento do biofilme influenciado pela taxa de diluição, entre outras tantas.

Saravanan e Sreekrishnan (2005) realizaram, neste trabalho, uma revisão sobre modelagem matemática para reatores com biofilme. E, dizem que modelos para bioreatores com biofilme são utilizados para otimizar seu projeto, projetar sistemas de controle a serem usados, para sua operação e operação eficiente. Discutem modelos utilizados para simular reatores UASB e reatores AFBR (anaerobic fluidized bed reactor). Preconizam que, geralmente, nestes reatores a taxa de conversão de substrato é limitada pela taxa de transporte de substrato dentro do biofilme; tal como discutido em Rajagopalan *et al.* (1997); van Loosdrecht *et al.* (2002); Xavier *et al.* (2003) e Perez *et al.* (2005)b. Dizem que, processos anaeróbios com biofilme incluem todas as diferentes espécies de bactérias responsáveis pela quebra do complexo orgânico, para que no final se tenha como produto metano e dióxido de carbono. Os autores classificam o processo de tratamento anaeróbio, com biofilme, como o principal passo biológico em sistemas de tratamento de águas residuárias. Porém, argumentam que o AFBR como tendo algumas vantagens sobre o UASB, tais como: alta taxa de purificação, pouca formação de lodo e pequena área e volume são requeridos. Saravanan e Sreekrishnan (2005) dizem que para um estudo da sensibilidade destes processos, sob várias condições de operação e otimização

destes reatores, é necessário um modelo matemático que tenha em seu conceito físico a base das situações que ocorrem nos mesmos.

Continuando no trabalho de Saravanan e Sreekrishnan (2005), os autores classificam o biofilme da mesma maneira que os autores estudados até o momento; biofilme cresce em uma estrutura inerte, na qual as células bacterianas se imobilizam para realizarem o consumo do substrato. Nesta estrutura, existem duas fases distintas ocorrendo; uma a fase metanogênica e a outra acidogênica; na primeira o substrato é convertido em ácidos, e na outra estes ácidos convertidos em metano por bactérias existentes nesta fase. Discutem duas equações para o consumo do substrato, uma para cada fase citada, com termos difusionais diferentes; além de citarem, independentemente, a existência de dois tipos de biofilmes: estratificado e não-estratificado. Dando ênfase a vantagem de que, no biofilme estratificado, não há a inibição da fase metanogênica sob os ácidos graxos voláteis. A análise numérica dos modelos discutidos levou os autores a estabelecer que a produção de substratos intermediários, no biofilme, aumentou a conversão do substrato primário em produto final. Segundo os autores, os parâmetros mais importantes em modelagem destes reatores com biofilme são: i) o efeito do comportamento hidrodinâmico no reator; ii) a transferência de massa; iii) os efeitos cinéticos e iv) a estrutura e composição dos biogranulos.

Duvnjak e Eberl (2006) apresentaram, em seu trabalho, um método numérico para solução da equação de reação-difusão que ocorre em modelagem de biofilmes. Estes autores definem biofilme e colocam o substrato como um limitante em seu modelo, assim como Rajagopalan *et al.* (1997); van Loosdrecht *et al.* (2002); Xavier *et al.* (2003); PEREZ *et al.* (2005)b e Saravanan e Sreekrishnan (2005). Os autores aplicam metodologias matemáticas, tal com descritização do operador espacial, para que o mesmo se torne um operador de Laplace e que os efeitos não-lineares não apareçam na derivada temporal. Este artigo tem mais cunho matemático do que biotecnológico; por este motivo se torna uma leitura obrigatória para pesquisadores que desejam aprimorar o seu conhecimento na área de métodos numéricos aplicados a biotecnologia.

Hekmat *et al.* (2006) realizaram seu estudo em um sistema com multi-espécies e multi-substratos em biofilmes; e a partir de dados experimentais comprovaram a eficiência de um modelo matemático. O crescimento celular resulta no aumento da espessura do biofilme, em contraste com Rajagopalan *et al.* (1997); van Loosdrecht *et al.* (2002); Xavier *et al.* (2003); Perez *et al.* (2005)b que modelaram o biofilme com tendo espessura constante. As interações microbianas são proto-cooperação e competição. O biofilme foi modelado como uma estrutura heterogênea com espessura variável. Fortes retro-misturas ocorrendo no biofilme devido ao fluxo convectivo nos poros e canais. Da cinética, os autores concluíram que o tempo de reação para cada população é diferente.

Deste levantamento, bibliográfico, referente à modelagem de biofilmes, fica fácil identificar a importância desta estrutura no processo de tratamento de efluentes. Pois, a complexidade das interações entre microrganismos, substratos, taxas de transferência de massa, resistência difusionais, etc, que ocorrem nesta estrutura tornam seu estudo além de altamente atrativo, uma obrigação àqueles que desejam identificar matematicamente todos estes fenômenos.

2.8 Influência da presença de ácidos graxos em efluentes

Efluentes com alto teor de lipídeos são produzidos em quantidades consideráveis, através dos anos, na indústria alimentícia (CIRNE *et al.*, 2007). A presença destes lipídeos no efluente é um fator potencialmente atrativo para a produção de biogás, e claro, metano (SHINGEMATSU *et al.*, 2006, CIRNE *et al.*, 2007 e WANG *et al.*, 2009). Os lipídeos são importantes constituintes da matéria orgânica dos efluentes e, embora existam em concentrações relativamente baixas nos efluentes domésticos, a sua presença nos efluentes industriais é alvo de particular atenção (ALVES E PEREIRA, 1999); por exemplo, na indústria de processamento de subprodutos de frigoríficos, que é a fonte geradora do efluente em estudo. Existem dois tipos de distintos de problemas associados com a degradação anaeróbia de lipídeos: problemas físicos e problemas metabólicos. Os primeiros relacionam-se com a acumulação dos lipídeos nos agregados de biomassa, tornando-os leves, flutuantes e sujeitos a serem arrastados para fora do reator. Os problemas

metabólicos relacionam-se com a idéia aceita durante anos de que lipídeos são fortemente inibidores da atividade metanogênica (PEREIRA *et al.*, 2004, SHINGEMATSU *et al.*, 2006, CAVALEIRO, *et al.*, 2007, SOUZA *et al.*, 2007 e WANG *et al.*, 2009). No entanto, lipídeos são substratos de grande interesse na tecnologia de biodegradação anaeróbia, devido ao seu alto poder de produção de biogás e metano quando comparado com proteínas ou carboidratos (CIRNE *et al.*, 2007).

Vavilin e Lokshina (1996) estudaram a cinética da degradação de ácidos graxos e a atividade microbiana. Neste trabalho os autores dizem que a presença de altas concentrações de ácidos graxos, geralmente, é a fonte de falhas na digestão anaeróbia; sendo que estes são inibidores da atividade metanogênica. O que foi, também, discutido em Vavilin *et al.* (1996) e Kashyap *et al.* (2003). Em ambos os trabalhos, os autores notificaram sobre a complexidade das interações que ocorrem no processo de biodegradação dos ácidos graxos; e que o acetato é o principal precursor da formação de metano. O que foi bastante estudado em trabalhos seguintes (CAVALEIRO, 1999; RIBEIRO, 1999; KESHTKAR *et al.*, 2003; PEREIRA *et al.*, 2004, SHINGEMATSU *et al.*, 2006, CAVALEIRO, *et al.*, 2007, SOUZA *et al.*, 2007 e WANG *et al.*, 2009).

Kashyap *et al.* (2003), em estudo sobre a biometanização, discorrem sobre o processo sob temperatura psicrófila. Neste trabalho os autores também discutem os efeitos inibitórios da presença de ácidos graxos no efluente; no entanto, reportam como tóxico o propionato. O que levaria a diminuição na produção de metano, através deste efeito. E, que este efeito é aumentado com o baixo tempo de retenção hidráulico em reatores. O que corrobora com o discutido até o momento. Pereira *et al.* (2004), Aquino e Chernicharo, 2004, Pereira *et al.* (2005), Shigematsu *et al.* (2006), Cirne *et al.* (2006), Cavaleiro *et al.* (2007)^{1,2}, Souza *et al.* (2007), todos estes autores citam em seus trabalhos os possíveis efeitos inibitórios de ácidos graxos na cinética da biodegradação; alavancados por estudos anteriores mostram que tanto por questões hidráulicas como cinéticas estes ácidos provocam algum tipo de problema no tratamento de efluentes. No entanto, Pereira *et al.* (2002) observou que quando alimentado, continuamente, um reator com ácido oléico havia um enorme

acúmulo de ácido palmítico na biomassa, sem que este fosse mineralizado nas condições pré-estabelecidas. Porém, se retirasse biomassa do reator e a incubasse num reator batelada, sem adição de outros substratos, ocorria a mineralização a metano. Desta forma, os autores mostraram que o consórcio microbiano tinha capacidade de degradar ácidos graxos quando associados à biomassa por mecanismos de adsorção, precipitação ou retenção no interior dos flóculos, mas não quando dispersos em emulsões no meio líquido. O resultado mais importante obtido foi a demonstração de que, após a degradação dos ácidos graxos associados a biomassa, esta recupera sua atividade metanogênica, a tornando capaz de receber nova carga de ácidos graxos. Portanto, ao contrário do que era aceito por vários autores, os ácidos graxos podem ser eficientemente degradados, desde que se apliquem condições favoráveis (PEREIRA *et al.*, 2004).

Cirne *et al.* (2007), investigaram os efeitos da concentração inicial de ácidos graxos na hidrólise e biometanização de efluentes; variando de 5% até 47% em peso. Sob altas concentrações (31%, 40% e 47%) os autores observaram forte inibição; mais, como em Pereira *et al.* (2005), o processo se restabeleceu da inibição. Os mesmos problemas, físicos e metabólicos, são citados neste trabalho. Ainda, citam que o processo depende da habilidade dos microrganismos metanogênicos hidrogenotróficos em utilizar o hidrogênio produzido durante a oxidação dos ácidos graxos, tal como verificado por Aquino e Chernicharo, 2004. E, segundo Cirne *et al.* (2007), o efeito inibitório não deve ser atribuído exclusivamente a presença de ácidos graxos no efluente, mais também pelo acúmulo de produtos devido a particularidades das lipases; pois estas requerem que sua interface seja atingida. Como é um fenômeno interfacial, o mecanismo de hidrólise dos lipídeos é uma função da concentração e da qualidade desta interface; mais uma vez mostrando a interferência da transferência de massa no processo de digestão anaeróbia. Chen *et al.* (2008) realizou uma revisão dos diversos componentes e parâmetros de processo que causam inibição no processo de digestão anaeróbia. Estes autores, além de vários fatores, estudaram a inserção de ácidos graxos em efluentes a serem tratados por esta tecnologia; que como é o foco deste estudo será abordado com maior afinco. Novamente são citados todos os

fatores mostrados anteriormente, porém, neste trabalho em particular os autores citam que a biodegradação destes ácidos ocorrem tanto no comportamento mesófilo quanto no termófilo.

Em Cavaleiro *et al.* (2008), que estudaram a produção de metano através de efluentes com alta carga de ácidos graxos, é possível encontrar uma importante informação sobre a cinética da degradação destes substratos; os autores citam que o fenômeno de limitação de transporte, causado pela presença do substrato gorduroso, é um importante contribuinte para o aparecimento do comportamento diaúxico do processo de crescimento microbiano. E, que a seqüência acumulação-degradação sustenta a produção do biogás no processo. Chen *et al.* (2008) estudando os mesmos efeitos, mostraram que o principal componente que contribui para o efeito inibitório é o ácido propiônico. Pois, quando ácido acético e ácido butírico são alimentados no reator com concentrações de 2400 e 1800 mg/l, respectivamente, não há inibição do processo de digestão. No entanto, ao se adicionar ácido propiônico com concentração de 900 mg/l, o efeito inibitório aparece, fazendo com que o crescimento microbiano decaia significativamente. Conclusão parecida é encontrada no trabalho de Wang *et al.*, 2009.

2.9 Efeito Diaúxico

Kroumov (1999) diz que o interesse pelo desenvolvimento de modelos descrevendo o processo de utilização de múltiplos substratos tem aumentado significativamente no meio científico, e além deste processo, também o correspondente mecanismo regulatório responsável pelo crescimento diaúxico. Fenômeno este que pode envolver a utilização seqüencial ou simultânea dos substratos presentes (TURNER e RAMKRISHNA, 1986; BALOO e RAMKRISHNA, 1991^a; BALOO e RAMKRISHNA, 1991^b; KROUMOV, 1999; PATNAIK, 2000). O crescimento diaúxico é caracterizado, segundo Narang (2006), pelo aparecimento de duas fases de crescimento exponencial separados por uma fase de retardo chamada retardo diaúxico.

Microrganismos crescendo em um meio com múltiplos substratos apresentam diferentes, e variadas, preferências por vários componentes deste meio (PATNAIK, 2000). Esta preferência dependerá das condições de operação e os substratos podem ser utilizados sequencialmente ou

simultaneamente; às vezes, os microrganismos podem variar sua preferência entre substratos e/ou utilização sequencial ou simultânea. Estes aspectos tornam a modelagem matemática, de crescimento de microrganismos em um meio de múltiplos substratos, extensamente dificultosa. Baloo e Ramkrishna (1991)^a e Baloo e Ramkrishna (1991)^b discutem que o modelo de Monod descreve bem o crescimento de microrganismos e taxa de consumo de um substrato sob condições estacionárias; porém, ao aplicar este modelo com a variação de ambiente, o modelo falha para descrever o estado transiente do processo. Segundo os autores, o motivo principal da existência desta anomalia é causado pela regulação metabólica, na qual o controle de todas as reações e funções microbianas não é incorporado na descrição do crescimento microbiano.

Casasús *et al.* (2005) desenvolveu um modelo para simular o crescimento diáuxico da bactéria denitrificante. Os processos incluídos no modelo são: crescimento aeróbico de biomassa heterotrófica, crescimento anaeróbio de biomassa heterotrófica, deterioração de biomassa, taxa de síntese de oxigenase (enzima associada com crescimento aeróbio), taxa de síntese de reductase (enzima associada com crescimento anaeróbio), e deterioração da oxigenase e reductase. O modelo destes autores, como já discutido em Turner e Ramkrishna (1986), mostrou o aparecimento de duas fases de crescimento exponencial separados por uma fase de retardo. A diferença, neste caso, foi o emprego da modelagem de crescimento diáuxico não na presença de dois substratos, mas na presença de duas condições diferentes de operação no mesmo sistema; uma aeróbica e outra anaeróbica. O que corrobora com a interpretação de Patnaik (2000) e Narang (2006) sobre o crescimento diáuxico.

Aggelis *et al.* (2005) estudam uma extensão da repressão catabólica feita do nível genético para o nível de comportamento do predador chave. A modelagem mostra que quando uma população chave tem vantagens competitivas sobre um predador (pelo uso de um substrato em comum), o mecanismo de repressão catabólica favorece a população chave; o que foi citado também por Vayenas *et al.* (2005). Quando o predador tem vantagens competitivas a baixas concentrações de substrato e a população chave em altas concentrações de substrato, a introdução do mecanismo de repressão catabólica

no modelo outra vez favorece a população chave, enquanto a região de coexistência é dramaticamente reduzida. Inversamente, quando a população chave tem vantagens competitivas a baixas e o predador a altas concentrações de substrato, o domínio da população chave e o estado de coexistência podem ser favorecidos pelo mecanismo de repressão catabólica. Isto levou os autores a concluir que, o controle através de repressão catabólica favorece o domínio da população chave, e, sob certas circunstâncias, a coexistência de ambos predadores e população chave.

O trabalho de Narang (2006) vem solidificar todas estas definições sobre crescimento diauxico e efeitos do mecanismo de repressão catabólica. Ele contribui no sentido de explicar, com bases mais fortes, a fase de retardo diauxico; definindo-a como sendo o tempo requerido pelas células para configurar as enzimas periféricas para níveis suficientemente altos da população chave. E, após esta fase, haverá o consumo do substrato em excesso. Ainda, diz que, o fenômeno de crescimento de múltiplos substratos é um paradigma do mecanismo pelo qual a expressão dos genes é controlada. Assim, tem repercussões importantes sobre o problema de desenvolvimento, no qual há o interesse em controlar a organização espaço-temporal da expressão do gene em desenvolvimento de organismos. Isto tem implicações profundas em processos biotecnológicos.

O comportamento diauxico foi citado por outros autores no decorrer dos anos (SHIGEMATSU *et al.*, 2006; CAVALEIRO *et al.*, 2007^{1,2}; SOUSA *et al.*, 2007; CIRNE *et al.*, 2007; CAVALEIRO *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2009); pois, em todos estes trabalhos há a discussão sobre a inibição temporária devido a concentração de lipídeos no processo, ou por outros fatores já citados, com posterior seguimento na biodegradação. Este processo inibição-degradação afeta diretamente o crescimento microbiano, e o principal efeito previsto é o aparecimento da diauxia.

2.10 Método de Identificação de parâmetros

A identificação de parâmetros, para a modelagem matemática, é crucial para que o desenvolvimento do modelo seja o mais aproximado do processo real em si; a ferramenta que proporciona isto é baseada nos métodos de otimização.

Tornou-se natural ao ser humano propor formulações matemáticas para encontrar a solução de muitos problemas encontrados na natureza. A teoria da otimização pode ser definida como sendo a tarefa de determinar qual das soluções existentes para um determinado problema é a melhor, isto é, a ótima. Esta determinação é feita através de métodos que, em grande parte dos casos, são formulados formalmente através da matemática.

O modelo matemático básico de um problema de otimização obedece ao seguinte raciocínio: minimizar uma função-objetivo $f(x)$, de acordo com as restrições impostas pela função $g(s)$, onde s representa o conjunto de soluções permitidas para a função em questão e x é variável que deve ser otimizada.

Alguns destes problemas envolvem apenas modelos lineares, nos quais as variáveis são contínuas e apresentam comportamento linear, tanto em relação à função objetivo quanto às restrições (GREIG, 1980). Os outros problemas são conhecidos como problemas de otimização não-lineares, cujas características são as de exibir qualquer tipo de não-linearidade ou não continuidade, seja na função objetivo ou em qualquer das suas restrições. Naturalmente, eles apresentam a maior dificuldade e complexidade nas suas resoluções e são o foco deste trabalho (GREIG, 1980).

Define-se que a solução ótima encontrada pode ser de natureza global ou local. É dita global a melhor solução dentre todas as soluções existentes para aquele determinado problema.

2.10.1 Métodos Heurísticos

No âmbito computacional, as heurísticas são definidas como uma tarefa que tem por objetivo encontrar a solução mais aproximada através de algum conhecimento disponível e com médio esforço computacional (GREIG, 1980). Uma definição dada por Reeves (1995) é que uma heurística é uma técnica que busca boas soluções (quase ótimas) a um custo computacional razoável, porém sem ser capaz de garantir que as mesmas sejam ótimas ou admissíveis. Em alguns casos, pode-se nem determinar quão próximo do ótimo se encontra a solução admissível.

Logo, a heurística não garante descobrir a melhor solução, isto é, a solução ótima para um problema. O seu principal foco está na flexibilidade e

na busca contínua de utilização mínima de recursos computacionais. Dessa forma, é possível que se atinja o ótimo global para um determinado problema, mesmo que a heurística não garanta esta responsabilidade e nem indique quão próxima a solução se encontra do ótimo global.

Os algoritmos baseados em heurísticas, em sua maioria, possuem um caráter genérico (SUCUPIRA, 2006). Como se torna bastante dispendioso desenvolver uma heurística específica para cada problema existente, visto que, exigiria a presença de um especialista no problema para sua implementação, e conseqüentemente, um considerável tempo para a sua implementação, pesquisadores tomaram por decisão tentar criar heurísticas de caráter genérico (SUCUPIRA, 2006).

Apesar de não se ter encontrado a heurística que encontra o ótimo global a um baixo computacional, os estudos nesta área ainda não foram esgotados. Diversas heurísticas com ótimos resultados são constantemente propostas.

2.10.2 Métodos Metaheurísticos

Assim como as demais heurísticas, a metaheurística visa também encontrar uma solução aceitável para um problema sem fazer uso de rigidez ou elevada quantidade de recursos computacionais. Seu foco principal é encontrar a resposta a que se propõe utilizando um razoável grau de recursos computacionais e flexibilidade controlada.

Entretanto, as metaheurísticas se diferenciam das outras heurísticas, pois seus algoritmos são aplicáveis a vários tipos de problema fazendo uso de combinação de uma ou mais heurísticas para explorarem de forma conjunta o espaço de soluções. Para isso, na maioria dos casos, eles se inspiram em diversas áreas como física, biologia, ciências sociais e entre outros.

Uma outra característica vantajosa das metaheurísticas é a facilidade para a exploração em espaços de busca dos ótimos locais. Enquanto a heurística seleciona um ótimo local como o melhor, já que não encontrou outro, dentro de um espaço de busca determinado por uma função, as metaheurísticas fazem uso de táticas que permitem a melhor exploração deste

espaço, e conseqüentemente, permitir facilitar a localização de um melhor ótimo local (POLTOSI, 2006).

Diversas metaheurísticas foram propostas. As principais características que diferenciam as diferentes abordagens são (POLTOSI, 2006):

- A definição da escolha e representação da solução inicial;
- A definição da vizinhança $N(t)$ de uma solução t ;
- O critério de seleção de uma solução vizinha dentro de $N(t)$;
- A condição de término.

Diante destas características, agrupou-se as metaheurísticas em dois grandes grupos de acordo com os critérios utilizados para a busca de soluções: busca local e busca populacional. O algoritmo das metaheurísticas do grupo de busca local se baseia na exploração do espaço de soluções através de movimentos entre seus vizinhos. A cada iteração uma nova geração é gerada até que se consiga atingir uma solução desejável. Exemplo de um algoritmo qualificado como metaheurística de busca local são os algoritmos de busca tabu (POLTOSI, 2006) e *simulated annealing* (KIRKPATRICK *et al*, 1983). Estes algoritmos determinam a cada iteração, através de uma função de avaliação, qual vizinho conseguiu superar.

Diferente das metaheurísticas caracterizadas pela busca local, os algoritmos das metaheurísticas de busca populacional consistem na busca da manutenção de um conjunto de boas soluções e, através de combinações entre elas, tentam alcançar soluções melhores. Como exemplo desta classe de metaheurísticas, pode-se citar os algoritmos genéticos, visto que a geração de uma nova população (possíveis soluções) é criada a partir de operações de recombinação e mutação entre as soluções (COLDBERG, 1989). Logo, a evolução da população faz com que a formação dos novos indivíduos caminhe para o ótimo, à medida que aumenta sua função de adaptação (*fitness*).

Dentre essas metaheurísticas, várias propostas de novos procedimentos metaheurísticos vêm sendo apresentadas. Uma dessas propostas, visando chegar cada vez mais próximo da solução ótima em tempo cada vez menor e que tem sido bastante adotado, é o algoritmo conhecido

como otimização por enxame de partículas (*Particle Swarm Optimization*) (KENNEDY e EBERHART, 1995). Esse algoritmo faz parte das mais recentes metaheurísticas propostas e está, até o presente momento, apresentando excelentes resultados para problemas de alta dimensionalidade.

2.10.3 Método do Enxame de Partículas

Problemas compostos de múltiplas variáveis e diversas soluções estão presentes em uma grande variedade de situações reais. Esses problemas normalmente são caracterizados por circunstâncias em que se desejam maximizar ou minimizar uma função numérica de várias variáveis, em um contexto em que podem existir restrições.

Apesar da existência de diversas técnicas clássicas de otimização para solução desses tipos de problema, a sua falta de robustez, aliada à alta complexidade e custo computacional em problemas com alta dimensionalidade, impulsionaram a busca por novas alternativas.

A sofisticação dos recursos computacionais desenvolvidos nos últimos anos possibilitou também avanços nas técnicas de otimização. Estes avanços foram impulsionados com êxito, especialmente, através dos estudos de métodos heurísticos com maior destaque às metaheurísticas que guiam as heurísticas em facilitar a obtenção de soluções ótimas em diferentes espaços de busca, inclusive com vários máximos ou mínimos locais.

Dentre essas metaheurísticas, os algoritmos evolutivos, em especial os baseados em população, têm tido grande sucesso em solucionar problemas de otimização de múltiplas soluções (ZITZLER e THIELE, 2000; KNOWLES e CORNE, 2000, LAUMANNNS *et al.*, 2000). Um desses algoritmos que tem sido bastante adotado é o algoritmo conhecido como Otimização por Enxame de Partículas (*PSO, particle swarm optimization*) (KENNEDY e EBERHART, 2001; KENNEDY e MENDES, 2002). A técnica de otimização por enxame de partículas (PSO – do inglês *Particle Swarm Optimization*), foi criada por Kennedy & Eberhart (1995), a partir da análise comportamental dos pássaros a procura de alimento ou de um local para construção do ninho. Este algoritmo faz uso da teoria dos enxames, onde os pássaros fazem uso de suas experiências e da experiência do bando para localizar o ninho ou alimento.

Desta forma a área sobrevoada corresponde ao espaço definido do projeto e encontrar a comida significa encontrar o ótimo ou próximo do ótimo. A possibilidade de encontrarem alimento, baseados na inteligência social, aumenta significativamente, porque um indivíduo aprende com o acerto do outro (PRADO & SARAMAGO, 2005).

2.10.3.1 Componentes do PSO

O algoritmo é baseado em um espaço de busca, onde é inicialmente gerada uma população aleatória de partículas e a estas associadas uma velocidade, ou seja, cada partícula possui uma posição (x_i) e uma velocidade (v_i). O vetor velocidade é um dos itens mais importantes no algoritmo *PSO*, pois as mudanças da posição das partículas durante a execução do processo são guiadas pela atualização da velocidade. As partículas voam pelo espaço de busca tendo suas velocidades atualizadas dinamicamente de acordo com o histórico das experiências individuais e coletivas de todo o enxame (YUHUI, 2004). Logo, a evolução do algoritmo do *PSO* está associada à trajetória percorrida pelo enxame e ao tempo gasto para encontrar a melhor solução do problema (TRIGUEIROS, 2008). A cada interação, cada partícula atualiza sua velocidade, pela seguinte expressão:

$$\vec{v}_i^{k+1} = \omega^k * \vec{v}_i^k + c_1 * \lambda_1 * \left(\vec{x}_{i^{melhor}}^k - \vec{x}_i^k \right) + c_2 * \lambda_2 * \left(\vec{x}_g^{melhor}^k - \vec{x}_i^k \right)$$

Onde ω é dado pela equação:

$$\omega^k = \omega_{inicial} + \omega_{final} - \omega_{inicial} * \left(\frac{k-1}{ite-1} \right)$$

As constantes c_1 e c_2 , também chamadas na literatura de parâmetros de confiança, aplicadas tanto ao vetor memória quanto ao vetor cooperação indicam a importância do caráter social ou cognitivo do enxame. Altos valores atribuídos a c_1 , que está associado ao vetor memória, indica que o algoritmo dará mais importância ao conhecimento individual da partícula. Por outro lado, altos valores atribuídos a c_2 , que está associado ao vetor cooperação, indica que o conhecimento global do enxame tem maior importância no algoritmo (TRIGUEIROS, 2008). Na literatura, tem se adotado para a resolução de grande

parte dos problemas, valores semelhantes aos c_1 e c_2 , onde a atualização da velocidade sofrerá influência de forma equivalente tanto do conhecimento individual da partícula como o conhecimento do enxame (YUHUI, 2004).

As variáveis $\vec{x}_i^{melhor^k}$ e $\vec{x}_g^{melhor^k}$ representam as melhores soluções encontradas pela partícula individualmente e socialmente respectivamente. Eles distinguem os dois componentes do termo de atualização da velocidade do *PSO*: o componente de cognição e o componente social.

Os valores de λ_1 e λ_2 são variáveis aleatórias sorteadas no intervalo (0,1), as quais modificam as velocidades das partículas em cada iteração, perturbando suas trajetórias a fim de atingir um ótimo global, evitando ótimos locais (TRIGUEIROS, 2008; YUHUI, 2004).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentados todos os materiais e métodos utilizados durante o desenvolvimento da pesquisa para esta tese.

3.1 Materiais

O efluente, caso de estudo desta tese, foi obtido da empresa Farima Indústria e Comércio de Subprodutos Animais Ltda; efluente este gerado na condensação dos gases de seu processo e limpeza geral de equipamentos e instalações. A amostra foi retirada na entrada do reator UASB, presente na empresa, pois, neste ponto o mesmo já se encontra aclimatado. A caracterização foi realizada por contratação de um laboratório terceirizado.

Dois reatores anaeróbios, com volume de dois litros, foram utilizados para o desenvolvimento do experimento. O intuito foi realizar o experimento para obter dados da biodegradação em batelada, e, com isto realizar o levantamento da cinética microbiana deste processo; conforme trabalho de Fontoura, 2004; Pereira *et al.*, 2004 e 2005; Cavaleiro *et al.*, 2007^{1,2}; Sousa *et al.*, 2007; Cirne *et al.*, 2007; Cavaleiro *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2008 e Wang *et al.*, 2009.

As análises de DQO foram feitas com o emprego de um espectrofotômetro marca HANNA HI 83099, utilizando como padrão de análises reagentes adquiridos da mesma empresa. A concentração de metano foi obtida segundo o experimento descrito em Aquino *et al.* (2007), e em Cavaleiro *et al.* (2007).

As análises dos ácidos graxos livres, ácido acético e ácido oléico foram realizadas segundo a metodologia descrita em COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL; e os reagentes padronizados segundo mesma metodologia. A DQO foi obtida em medidas diretas no display do equipamento. No entanto as análises de ácidos são expressas em %, portanto, foi realizada inicialmente uma análise de ácidos graxos totais em laboratório particular; para que com este valor se pudesse obter a concentração dos ácidos durante o processo. Visto que os ácidos estudados são convertidos do ácido graxo total inicial, presente no efluente.

3.2 Métodos

Os reatores foram montados sobre um banho termostático, que forneceu o controle da temperatura; esta mantida a aproximadamente 37 °C. O monitoramento da

temperatura foi feito através do emprego de termostatos instalados em contato com o líquido reacional. As amostras foram coletadas a cada quatro dias, e as análises realizadas imediatamente.

A coleta foi feita através de inserção de uma seringa graduada, no meio reacional, e retiradas alíquotas com volume suficiente para realização de todas as análises pertinentes. Todas as análises eram realizadas imediatamente após retirada da amostra, para que não se compromete-se os resultados encontrados.

3.3 Dados Iniciais do Efluente

Após a montagem do aparato experimental, e todas as metodologias estudadas, a biodegradação teve início. Para que se pudesse ter conhecimento das características iniciais do efluente alguns dados foram obtidos, através de análises preliminares. As proporções utilizadas para cada bactéria presente no meio reacional foram acatadas do trabalho de Keshtkar *et al.*, 2003.

Os demais dados, como volume do reator foi fixado, isto devido as condições experimentais que se tinha no momento de sua realização. Os dados cinéticos não foram levados em conta, no experimento, uma vez que seriam identificados através do uso do algoritmo PSO.

Desta forma, a tabela a seguir sumariza os dados iniciais, com os quais o experimento foi colocado em funcionamento.

Tabela 06 – Dados iniciais do efluente.

Dados iniciais do processo	
Parâmetros	Valores
Conc. DQO (C_{dco})	9,1 g/l
Conc. Ácido Acético (C_{ac})	0,65 g/l
Conc. Ácido Oléico (C_{ol})	0,95 g/l
Conc. Ácidos Graxos Livres (C_{agl})	0,2 g/l
Conc. Amônia (C_{am})	3,03 g/l
Conc. Dióxido de Carbono (C_c)	0,0 g/l
Conc. Metano (C_m)	0,0 g/l
Conc. Total Bactérias (X_{total})	0,2 g/l
Conc. Bact. Acidogênicas (X_A)	$0,65 \cdot X_{total}$
Conc. Bact. Acidogênicas degrad. Ac. Oléico (X_{AP})	$0,025 \cdot X_{total}$
Conc. Bact. Acidogênicas degrad. Ac. Graxos Livres (X_{AB})	$0,025 \cdot X_{total}$
Conc. Bact. Metanogênicas (X_M)	$0,3 \cdot X_{total}$
Volume reator (V)	2 l
Conc. gasosa Metano ($P_{methane}$)	0,0 g/l
Conc. gasosa Dióxido de Carbono (P_{CO_2})	0,0 g/l
Constante de saturação ref. DQO ($K_{s_{dco}}$)	Estimado
Constante de saturação ref. Ac. Oléico ($K_{s_{ol}}$)	Estimado
Constante de saturação ref. Ac. Graxo Livre ($K_{s_{agl}}$)	Estimado
Constante de saturação ref. Ac. Acético ($K_{s_{ac}}$)	Estimado
Constante de inibição ref. Ac. Graxos ($K_{i_{VFA}}$)	Estimado
Constante de inibição ref. Ac. Oléico. ($K_{i_{ol}}$)	Estimado
Constante de inibição ref. Ac. Graxo Livre ($K_{i_{agl}}$)	Estimado
Constante de saturação ref. Amonia ($K_{i_{am}}$)	Estimado
Constante da taxa de hidrólise (k_o)	Estimado
Taxa de cresc. Máximo ref. Bact. acidogênica (μ_{maxA})	Estimado
Taxa de cresc. Máximo ref. Bact. Acidogênica degrad. Ac. Oléico (μ_{maxAP})	Estimado
Taxa de cresc. Máximo ref. Bact. Acidogênica degrad. Ac. Graxos livres (μ_{maxAB}) = 0.66 1/d	Estimado
Taxa de cresc. Máximo ref. Bact. Metanogênica (μ_{maxM})	Estimado
Fator de conversão de ácid. Oléico em ac. acético (fcmol)	Estimado
Fator de conversão de ácid. Graxo livre em ac. acético (fcmagl)	Estimado

4. MODELAGEM MATEMÁTICA

Neste capítulo são apresentados os modelos utilizados neste trabalho, bem como suas peculiaridades.

4.1 Modelagem

Tomando com base a modelagem desenvolvida em Keshtkar *et al.*, 2003, este trabalho modelou o processo de biodegradação anaeróbia de um efluente rico em ácidos graxos. Que é o caso do efluente que se utilizou no experimento realizado.

Como a modelagem matemática da cinética microbiana na presença de múltiplos substratos é bastante complexa, este trabalho optou pela utilização de modelos de crescimento microbiano que conduzissem o processo de utilização simultânea destes substratos. De acordo com o trabalho de Trigueiros (2008), existem vários modelos que levam a este resultado. E, do trabalho de outros autores (FONTOURA, 2004; PEREIRA *et al.*, 2004 e 2005; CAVALEIRO *et al.*, 2007^{1,2}; SOUSA *et al.*, 2007; CIRNE *et al.*, 2007; CAVALEIRO *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2009), foram incorporadas as outras peculiaridades da biodegradação deste tipo de efluente. Tal como o aparecimento do comportamento diaúxico durante o crescimento da colônia microbiana; ou preferência do consumo de ácido oléico em determinada fase da biodegradação (SHIGEMATSU *et al.*, 2006; CAVALEIRO *et al.*, 2007^{1,2}; SOUSA *et al.*, 2007; CIRNE *et al.*, 2007; CAVALEIRO *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2009).

Porém, este comportamento não acontece com todos os microrganismos, ou fase de reação, que estão presentes no processo. E, foi neste ponto que este trabalho contribui. Portanto, este trabalho mostrou que este comportamento ocorre com a bactéria metanogênica, e na etapa final do processo, **metanogênese**, a qual é muitas vezes o passo controlador da globalidade do processo de digestão anaeróbia (RIBEIRO, 1999; KESHTKAR *et al.*, 2002; e FONTOURA, 2004). E, ainda, ouve a necessidade de se incorporar no modelo a preferência do consumo de ácido acético em detrimento dos demais presentes no efluente.

Desta forma, segue o modelo proposto por este trabalho para a biodegradação anaeróbia do efluente em questão:

Modelo cinético (com inibição competitiva):

$$\mu_A = \mu_{\max A} * \frac{C_{dqo}}{\left(Ks_{dqo} + C_{dqo} + \frac{Ks_s}{Ki_{VFA}} * C_{dqo_f} \right)} \quad (01)$$

$$\mu_{AP} = \mu_{\max AP} * \frac{C_{ol} * Ki_{ol}}{\left(Ks_{ol} + C_{ol} + \frac{Ks_{ol}}{Ks_{ac}} * C_{ac} + \frac{Ks_{ol}}{Ks_{agl}} * C_{agl} \right)} \quad (02)$$

$$\mu_{AB} = \mu_{\max AB} * \frac{C_{agl} * Ki_{agl}}{\left(Ks_{agl} + C_{agl} + \frac{Ks_{agl}}{Ks_{ac}} * C_{ac} + \frac{Ks_{agl}}{Ks_{ol}} * C_{ol} \right)} \quad (03)$$

$$\mu_M = \left(1 - \frac{C_{ac}}{C_{ol}} \right) * \left(1 - \frac{C_{ac}}{C_{agl}} \right) * \left(\mu_{\max M} * \frac{C_{ac} * Ki_{am}}{\left(Ks_{ac} + C_{ac} + \frac{Ks_{ac}}{Ks_{agl}} * C_{agl} + \frac{Ks_{ac}}{Ks_{ol}} * C_{ol} \right)} \right) \quad (04)$$

Modelo cinético (SKIP):

$$\mu_A = \mu_{\max A} * \frac{C_{dqo}}{Ks_{dqo} + C_{dqo} + I_{dqo/dqof} * C_{dqo_f}} \quad (05)$$

$$\mu_{AP} = \mu_{\max AP} * \frac{C_{ol} * Ki_{ol}}{Ks_{ol} + C_{ol} + I_{ol/ac} * C_{ac} + I_{ol/agl} * C_{agl}} \quad (06)$$

$$\mu_{AB} = \mu_{\max AB} * \frac{C_{agl} * Ki_{agl}}{Ks_{agl} + C_{agl} + I_{agl/ac} * C_{ac} + I_{agl/ol} * C_{ol}} \quad (07)$$

$$\mu_M = \left(1 - \frac{C_{ac}}{C_{ol}} \right) * \left(1 - \frac{C_{ac}}{C_{agl}} \right) * \left(\mu_{\max M} * \frac{C_{ac} * Ki_{am}}{Ks_{ac} + C_{ac} + I_{ac/agl} * C_{agl} + I_{ac/ol} * C_{ol}} \right) \quad (08)$$

Balanço de massa na fase líquida:

$$\frac{dX_{total}}{dt} = \mu_A * X_A + \mu_{AP} * X_{AP} + \mu_{AB} * X_{AB} + \mu_M * X_M \quad (09)$$

$$\frac{dX_A}{dt} = \mu_A * X_A \quad (10)$$

$$\frac{dX_{AP}}{dt} = \mu_{AP} * X_{AP} \quad (11)$$

$$\frac{dX_{AB}}{dt} = \mu_{AB} * X_{AB} \quad (12)$$

$$\frac{dX_M}{dt} = \mu_M * X_M \quad (13)$$

Balanço de Substrato e Produtos na Fase Líquida:

$$k_{hydrate} = k_0 * \frac{Ki_{VFA}}{C_{ac} + f_{mcol} * C_{ol} + f_{mcagl} * C_{agl} + Ki_{VFA}} \quad (14)$$

$$\frac{dC_{dco}}{dt} = -k_{hydrate} * C_{dco_f} \quad (15)$$

$$\frac{dC_{ac}}{dt} = 3.54 * \mu_A * X_A + 8.006 * \mu_{AP} * X_{AP} + 15.366 * \mu_{AB} * X_{AB} - 24.135 * \mu_M * X_M \quad (16)$$

$$\frac{dC_{ol}}{dt} = 2.937 * \mu_A * X_A - 10.566 * \mu_{AP} * X_{AP} \quad (17)$$

$$\frac{dC_{agl}}{dt} = 3.079 * \mu_A * X_A - 11.919 * \mu_{AB} * X_{AB} \quad (18)$$

$$\frac{dC_{am}}{dt} = \frac{17 * (n - m * (1 - ye))}{(162 + 17 * n)} * k_{hydrate} * C_{dco_f} - 0.15 * \quad (19)$$

$$\mu_A X_A + \mu_{AP} * X_{AP} + \mu_{AB} * X_{AB} + \mu_M * X_M$$

$$N_c = K_{laco2} * \left(C_c - \frac{P_{co2}}{H_c} \right) \quad (20)$$

$$\frac{dC_c}{dt} = 2.413 * \mu_A * X_A + 1.01 * \mu_{AP} * X_{AP} + 3.303 * \mu_{AB} * X_{AB} + 16.726 * \mu_M * X_M \quad (21)$$

$$N_M = K_{lamethane} * \left(C_M - \frac{P_{methane}}{H_{methane}} \right) \quad (22)$$

$$\frac{dC_M}{dt} = 1.509 * \mu_{AP} * X_{AP} + 0.956 * \mu_{AB} * X_{AB} + 6.082 * \mu_M * X_M \quad (23)$$

Produção de Metano e CO₂ na fase Gasosa:

$$F_t = \frac{P_t}{(P_t - P_w)} * \left(\frac{N_M}{16} + \frac{N_c}{44} \right) \quad (24)$$

$$\frac{dP_{co2}}{dt} = \frac{R * T_t}{V_g} * \left(\frac{N_c}{44} * V - \frac{P_{co2}}{P_t} \right) \quad (25)$$

$$\frac{dP_{methane}}{dt} = \frac{R * T_t}{V_g} * \left(\frac{N_M}{16} * V - \frac{P_{methane}}{P_t} * F_t \right) \quad (26)$$

Vale ressaltar que, a estequiometria utilizada nos balanços foi a mesma do trabalho de Keshtkar *et al.*, 2003. E, também que, o crescimento microbiano foi expresso apenas pelos modelos de Inibição Competitiva e SKIP; isto devido as características da cinética apresentada para o consumo dos substratos. No entanto, outros modelos foram testados sem se alcançar resultados satisfatórios. Por este motivo, não serão apresentados neste trabalho.

Na equação (04) os dois primeiros termos $\left(1 - \frac{C_{ac}}{C_{ol}} \right)$ e $\left(1 - \frac{C_{ac}}{C_{agl}} \right)$, do lado

direito, representam o comportamento diaúxico do processo; e, além disto, foi o ácido acético tem sua degradação retardada pela presença dos outros ácidos presentes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos, tanto na fase experimental do processo, quanto da simulação e otimização dos parâmetros cinéticos.

5.1 Resultados Experimentais

Os reatores foram colocados sob o banho termostático para controle da temperatura, a reação biológica foi conduzida pelo período de 80 dias; entre os quais alíquotas eram retiradas em períodos de quatro dias para obtenção dos dados experimentos do processo.

Após a retirada de cada alíquota, a primeira providência foi sempre a medida da DQO, através do fotômetro já mencionado, para que com isto não se tivesse tempo de perder as características da amostra naquele momento.

Neste mesmo momento, era feita a leitura do percolado de solução de hidróxido de sódio do aparato conectado aos reatores para identificação do deslocamento de biogás dos mesmos. E, através da metodologia descrita em Aquino *et al.* (2007), e em Cavaleiro *et al.* (2007), foi identificada a produção de metano no processo.

Seguindo pelas análises, em bancada por titulometria, da concentração dos ácidos graxos presentes na amostra; mais especificamente ácidos graxos livres, ácido acético e ácido oléico segundo a metodologia descrita no COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL.

Desta forma, os resultados experimentais foram obtidos, conforme mostra a tabela a seguir:

Tabela 07 – Dados Experimentais

Tempo (dias)	Conc. ácido acético (g/l)	Conc. ácido graxos livres (g/l)	Conc. ácido oléico (g/l)	DQO (g/l)	Conc. de metano (g/l)
0	4,5	2,3	0,2	9,1	0
4	5,2	3,4	1	8,8	1,2
8	5,3	3,6	1,6	8,3	2,8
12	4,8	3,8	1,75	7,1	3,75
16	4,2	3,9	1,95	6,4	4,2
20	3,2	3,9	1,98	5,5	4,4
24	2,2	3,8	2	4,2	4,6
28	1,4	3,15	1,95	3,5	4,85
32	1,25	2,8	1,8	3,2	4,95
36	1,2	2	1,4	2,6	5,2
40	1	1,1	1	2,05	5
44	0,6	0,4	0,58	1,65	4,62
48	0,28	0,25	0,25	1,1	4,4
52	0,2	0,14	0,2	0,75	4,45
56	0,08	0,12	0,15	0,6	4,5
60	0,05	0,05	0,07	0,55	4,55
64	0,02	0,05	0,08	0,3	4,58
68	0	0,02	0,085	0,2	4,5
72	0	0,02	0,05	0,18	4,4
76	0	0	0	0,16	4,38
80	0	0	0	0,16	4,4

Os resultados gráficos deste experimento mostram o comportamento dos substratos durante a biodegradação, porém, não foram realizadas análises para descrição do crescimento microbiano das espécies presentes nas fases de reação. No entanto, este crescimento pode ser avaliado pelo modelo proposto, uma vez que as taxas de velocidades de crescimento, bem como todos os parâmetros necessários foram identificados através do algoritmo PSO; e serão apresentados graficamente em momento oportuno deste trabalho.

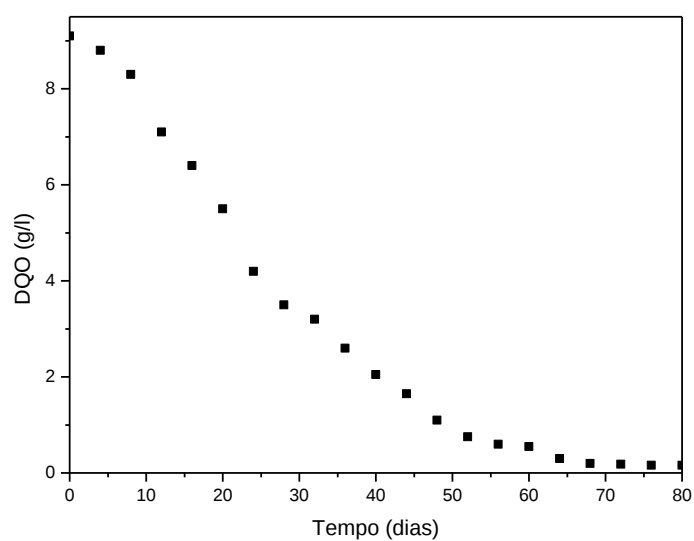


Figura 02 – Concentração de DQO (g/l) durante o período de reação.

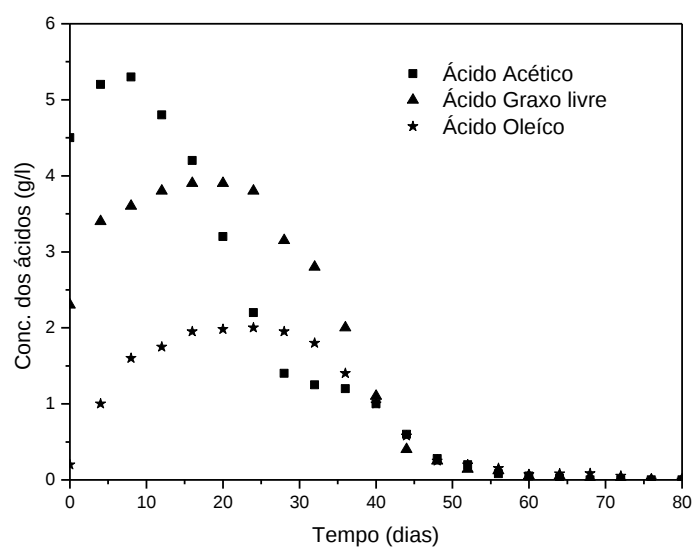


Figura 03 – Concentração dos ácidos (g/l) durante o período de reação.

Na figura 02, identifica-se o decréscimo da DQO no decorrer do experimento. Nos primeiros 40 dias esta diminuição é bastante acentuada, no entanto, após isto a taxa de decréscimo já não se mostra tão rápida; mostrando que após este período há pouca eficiência do processo em diminuir este parâmetro. Tendo como tempo ideal, para que este parâmetro atinja a faixa permitida de lançamento por lei, 65 dias. Apresentando ao final do processo 98% de redução de DQO.

Na figura 03, se pode observar a interação existente entre os substratos presentes no efluente. Onde se verifica a preferência de consumo dos substratos ácido graxos livres e ácido oléico em detrimento ao ácido acético. Ou seja, a presença destes substratos retardam o consumo do ácido acético. E, como este ácido é responsável pela geração de 70% do metano, o processo de mineralização dos substratos sofre inibição por estes (CAVALEIRO, 1999 e RIBEIRO, 1999). No entanto, como observado conforme há a degradação destes, segue a degradação do ácido acético; o que corrobora com os trabalhos de Pereira *et al.* (2004), Aquino e Chernicharo, 2004, Pereira *et al.* (2005), Shigematsu *et al.* (2006), Cirne *et al.* (2006), Cavaleiro *et al.* (2007)^{1,2}, Souza *et al.* (2007). Desta forma, a tecnologia se mostra uma boa alternativa para o processo de biodegradação deste tipo de efluente.

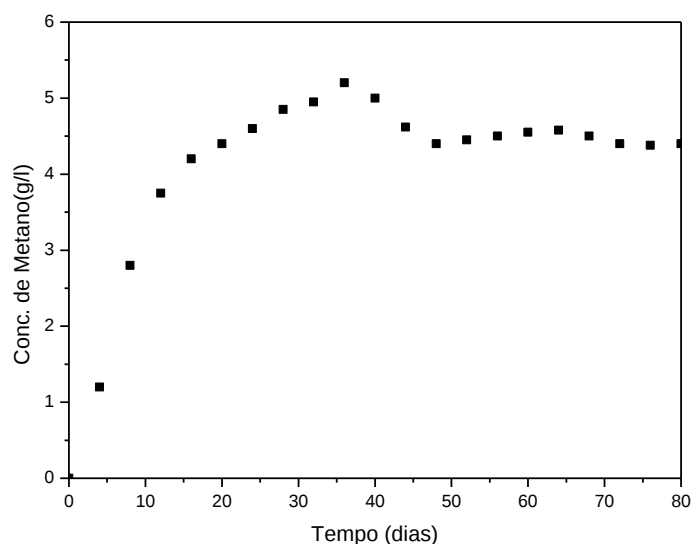


Figura 04 – Concentração de metano produzido (g/l) durante o período de reação.

Da figura 04, é possível observar a produção de metano pelo processo de biodegradação do efluente, tendo uma taxa de produção rápida nos primeiros 35 dias; chegando a ter uma queda de produção após 40 dias. Isto, devido a redução da taxa de metanização do efluente causada pela preferência dos microrganismos no consumo do ácido oléico; causando inibição competitiva na fase metanogênica.

Como vários autores (PEREIRA *et al.*, 2004, SHINGEMATSU *et al.*, 2006, CAVALEIRO, *et al.*, 2007, SOUZA *et al.*, 2007 e WANG *et al.*, 2009) citam em seu trabalho a inibição da atividade metanogênica pela presença de lipídeos no efluente; um

segundo experimento foi realizado com os mesmos reatores. Porém, desta vez um destes reatores foi colocado em agitação, através de agitador magnético a 350 rpm. No vigésimo dia a aeração foi desligada. E, os seguintes dados foram obtidos quanto à diminuição da DQO inicial do efluente. Vale ressaltar, que para este experimento foi retirado do mesmo reator UASB uma outra amostra do efluente; seguindo os mesmos procedimentos.

Tabela 08 – Dados experimentais

Tempo (dias)	DQO (g/l) sistema anaeróbio	DQO (g/l) sistema aeróbio inicialmente
0	15490	15490
4	14690	12860
8	8790	12680
12	5440	15090
16	4190	13430
20	3090	13550
24	2010	5950
28	1470	5140
32	1210	3850
36	1050	2480
40	605	1010
44	470	600
48	305	230
52	140	96
56	90	60
60	90	60

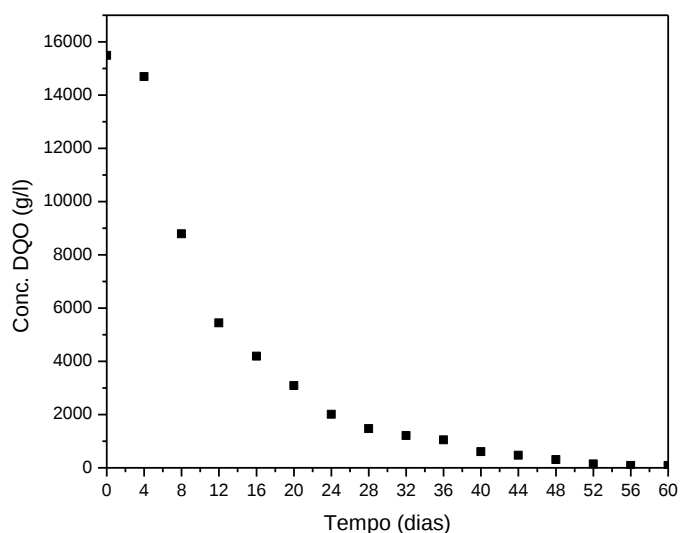


Figura 05 – Decréscimo da DQO em sistema anaeróbio.

A figura 05, obtida com a biodegradação anaeróbia do efluente, mostra o mesmo comportamento observado no experimento anterior. Ou seja, a diminuição da DQO no

decorrer do período de reação; corroborando com o já discutido nos parágrafos anteriores.

No entanto, a figura 06, obtida com o reator em agitação pelos primeiros 20 dias, mostra que não há decréscimo de DQO neste período. Isto motivado pelo já discutido por alguns autores (VAVILIN E LOKSHINA, 1996; CAVALEIRO, 1999; RIBEIRO, 1999; KESHTKAR *et al.*, 2003; PEREIRA *et al.*, 2004, SHINGEMATSU *et al.*, 2006, CAVALEIRO, *et al.*, 2007, SOUZA *et al.*, 2007 e WANG *et al.*, 2009), que estudaram o efeito físico da presença de lipídeos em efluentes durante a biodegradação. Pois, com alimentação continua do reator há arraste de biomassa, devido ao acúmulo dos lipídeos nos agregados de biomassa, tornando-os leves, flutuantes. Causando ainda, problemas metabólicos, uma vez que haverá reação somente nestes agregados de biomassa e não no meio reacional.

No entanto, como observado na figura 5, após o desligamento da agitação, ou em um reator a parada da alimentação continua por determinado tempo, a reação de biodegradação volta a ocorrer no meio reacional também. Neste caso de estudo, após a parada da agitação, fonte de arraste de biomassa, houve a volta da metanização do efluente; uma vez que se iniciou o decréscimo da DQO.

Com esta forma, prática e simples, foi possível constatar os efeitos comentados quanto aos problemas associados a presença de ácidos graxos em efluentes industriais.

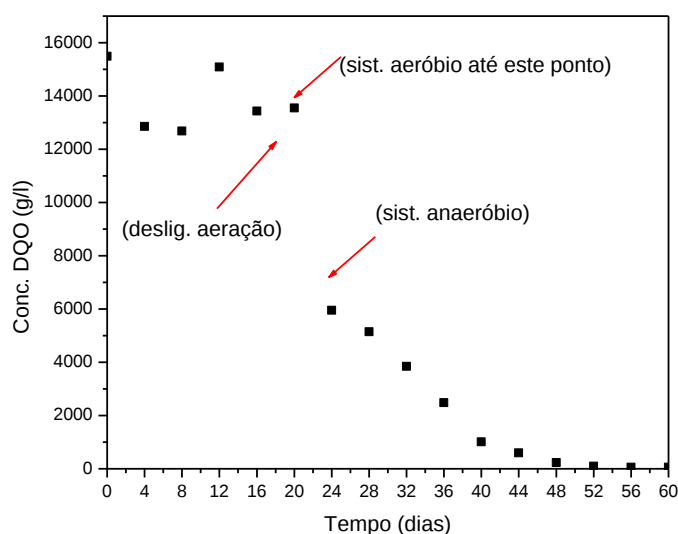


Figura 06 – Decréscimo da DQO em sistema aeróbio até o vigésimo dia.

5.2 Avaliação dos Modelos

Como já mencionado, através da modelagem proposta e o algoritmo PSO, foram realizadas avaliações dos modelos de crescimento microbiano presentes na literatura. Portanto, com base nos resultados experimentais obtidos foi possível avaliar de maneira satisfatória dois modelos de crescimento microbiano, primeiro o modelo de inibição competitiva e segundo o modelo SKIP.

Tabela 09 - Valores dos parâmetros do Método PSO utilizados nos modelos cinéticos

Parâmetro do Método PSO	Modelo de Inibição Competitiva	Modelo SKIP
Nº de indivíduos	200	200
Nº de interações	25	25
Nº de parâmetros	15	22
c_1	1	1
c_2	2	2
ω_{final}	0,9	0,9
$\omega_{inicial}$	0,4	0,4

Após a identificação dos parâmetros cinéticos, através do algoritmo PSO, foi realizada uma simulação computacional com o software MAPLE, na qual se comparou os resultados do modelo matemático com os resultados experimentais.

A tabela a seguir mostra os parâmetros cinéticos identificados através do método utilizado.

Tabela 10 – Parâmetros cinéticos identificados para os dois modelos utilizados.

Parâmetros cinéticos	
Modelo com Inibição Competitiva	Modelo SKIP
$K_{S_{dco}} = 0.6 \text{ g/l}$	$K_{S_{dco}} = 0.6 \text{ g/l}$
$K_{S_{ol}} = 0.3 \text{ g/l}$	$K_{S_{ol}} = 0.3 \text{ g/l}$
$K_{S_{agl}} = 0.18 \text{ g/l}$	$K_{S_{agl}} = 0.18 \text{ g/l}$
$K_{S_{ac}} = 0.09 \text{ g/l}$	$K_{S_{ac}} = 0.14 \text{ g/l}$
$K_{i_{VFA}} = 0.35 \text{ g/l}$	$K_{i_{VFA}} = 0.35 \text{ g/l}$
$K_{i_{ol}} = 0.9 \text{ g/l}$	$K_{i_{ol}} = 0.9 \text{ g/l}$
$K_{i_{agl}} = 0.7 \text{ g/l}$	$K_{i_{agl}} = 0.7 \text{ g/l}$
$K_{i_{am}} = 0.2 \text{ g/l}$	$K_{i_{am}} = 0.2 \text{ g/l}$
$k_o = 1.2 \text{ 1/d}$	$k_o = 1.2 \text{ 1/d}$
$\mu_{maxA} = 4.8 \text{ 1/d}$	$\mu_{maxA} = 4.8 \text{ 1/d}$
$\mu_{maxAP} = 0.53 \text{ 1/d}$	$\mu_{maxAP} = 0.53 \text{ 1/d}$
$\mu_{maxAB} = 0.66 \text{ 1/d}$	$\mu_{maxAB} = 0.66 \text{ 1/d}$
$\mu_{maxM} = 0.55 \text{ 1/d}$	$\mu_{maxM} = 0.55 \text{ 1/d}$
$f_{cmol} = 0.8$	$f_{cmol} = 0.8$
$f_{cmagl} = 0.68$	$f_{cmagl} = 0.68$
	$I_{dco/dqof} = 1.72$
	$I_{ol/ac} = 3.36$
	$I_{ol/agl} = 1.68$
	$I_{agl/ac} = 2.02$
	$I_{agl/ol} = 0.62$
	$I_{ac/agl} = 0.52$
	$I_{ac/ol} = 0.32$

Como pode ser observado, pelas figuras a seguir, o modelo se ajusta de maneira satisfatória aos dados experimentais. Desta forma, o mesmo pode ser utilizado para o estudo do comportamento da biodegradação anaeróbia de efluentes ricos em ácidos graxos. Vale ressaltar, que foram utilizados os modelos cinéticos de inibição competitiva e SKIP, e, ambos ajustaram perfeitamente aos dados experimentais. Os modelos de inibição a-competitiva e não-competitiva não conseguiram representar os dados experimentais, ou seja, o processo de biodegradação.

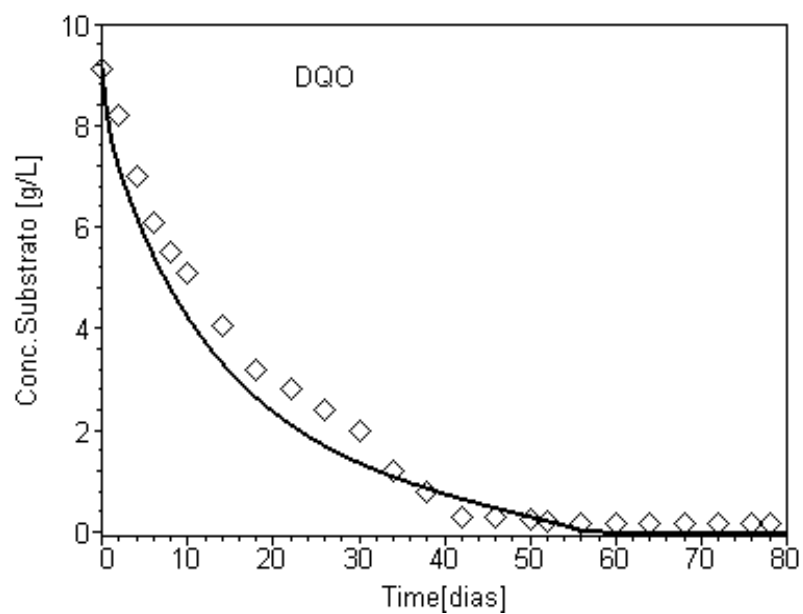


Figura 07 – Perfil de concentração de Substrato (DQO).

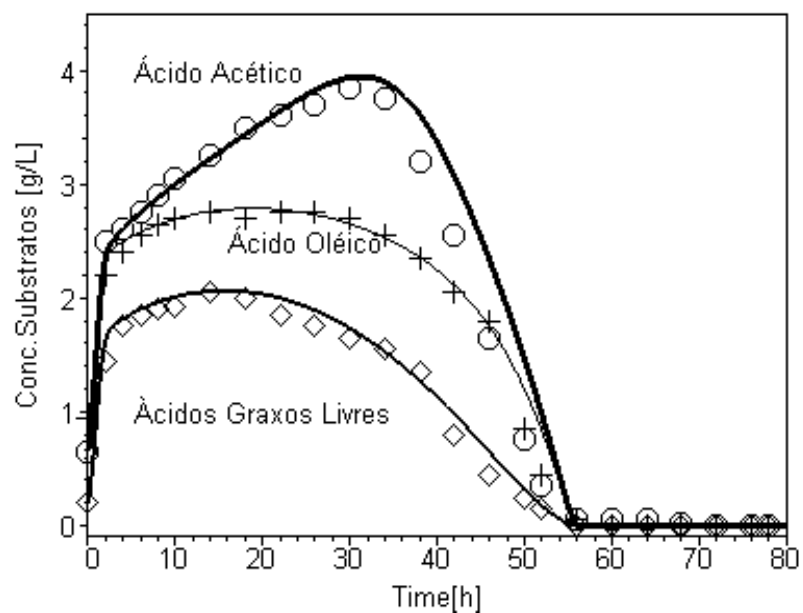


Figura 08 – Perfil de concentração de Substratos (Ácido Acético, Ácido Oléico e Ácidos Graxos Livres).

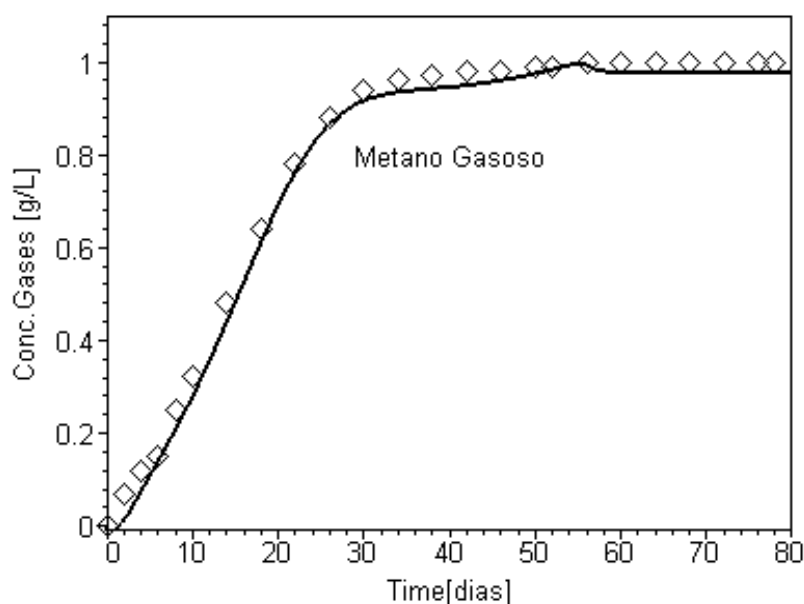


Figura 09 – Perfil de concentração de Produto (Metano).

Na figura 08, se pode observar a interação existente entre os substratos presentes no efluente. Onde se verifica a preferência de consumo dos substratos ácido graxos livres e ácido oléico em detrimento ao ácido acético. Ou seja, a presença destes substratos retardam o consumo do ácido acético. E, como este ácido é responsável pela geração de 70% do metano, o processo de mineralização dos substratos sofre inibição por estes (CAVALEIRO, 1999 e RIBEIRO, 1999). No entanto, como observado conforme há a degradação destes, segue a degradação do ácido acético; o que corrobora com os trabalhos de Pereira *et al.* (2004), Aquino e Chernicharo, 2004, Pereira *et al.* (2005), Shigematsu *et al.* (2006), Cirne *et al.* (2006), Cavaleiro *et al.* (2007)^{1,2}, Souza *et al.* (2007). Desta forma, a tecnologia se mostra uma boa alternativa para o processo de biodegradação deste tipo de efluente.

A modelagem cinética mostrou-se bastante sensível aos parâmetros, pois, tanto no modelo cinético de inibição competitiva quanto no SKIP, na fase metanogênica o fator de diauxia tem grande importância; uma vez que se não incorporado à modelagem não é possível ajustar os dados experimentais. Isto, devido a forte interação entre os substratos nesta fase do processo. E, justamente nesta fase a mineralização dos substratos, principalmente o ácido acético, é mais acentuada pelos microrganismos. Desta forma, fica evidente que ácido oléico é inibidor do processo; e que este se adere à massa microbiana e somente após sua degradação a atividade metanogênica retoma seu curso. O que foi proposto no trabalho de Pereira *et al.*, 2004.

Nas figuras a seguir (10 - 13), são apresentados os resultados da simulação do processo de biodegradação, utilizando os modelos SKIP e Inibição Competitiva. Com seus resultados comparados com os dados experimentais. E, nestas figuras, é possível verificar a boa aplicabilidade dos dois modelos na descrição de tal processo anaeróbio.

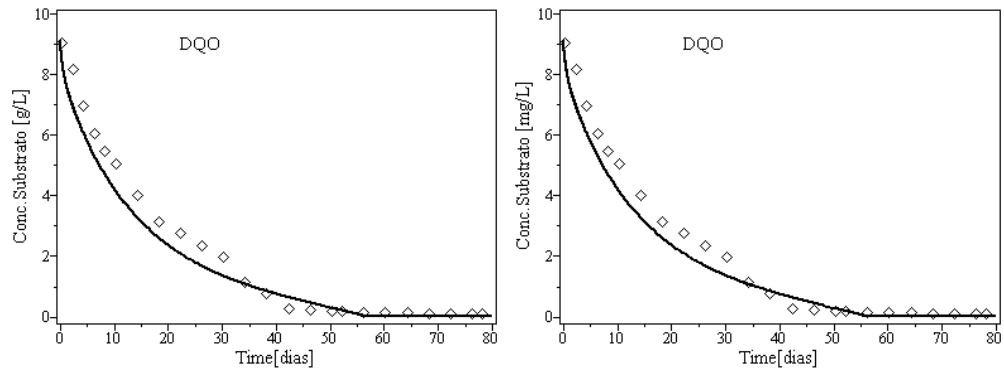


Figura 10 – Decréscimo de DQO - Modelo SKIP (gráfico da esquerda) e Modelo de Inibição Competitiva (gráfico da direita).

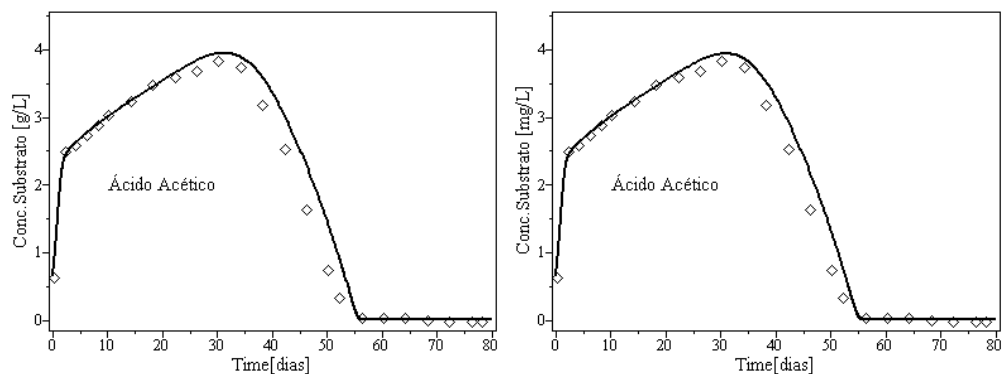


Figura 11 – Geração e Consumo do Ácido Acético - Modelo SKIP (gráfico da esquerda) e Modelo de Inibição Competitiva (gráfico da direita).

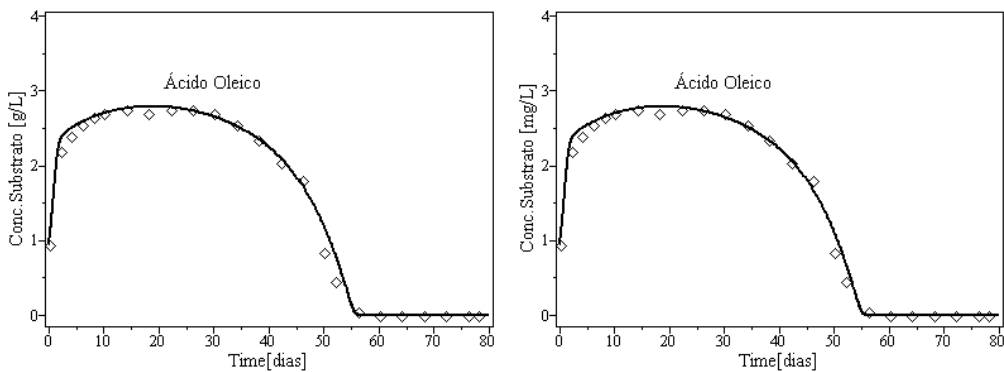


Figura 12 – Geração e Consumo do Ácido Oleico - Modelo SKIP (gráfico da esquerda) e Modelo de Inibição Competitiva (gráfico da direita).

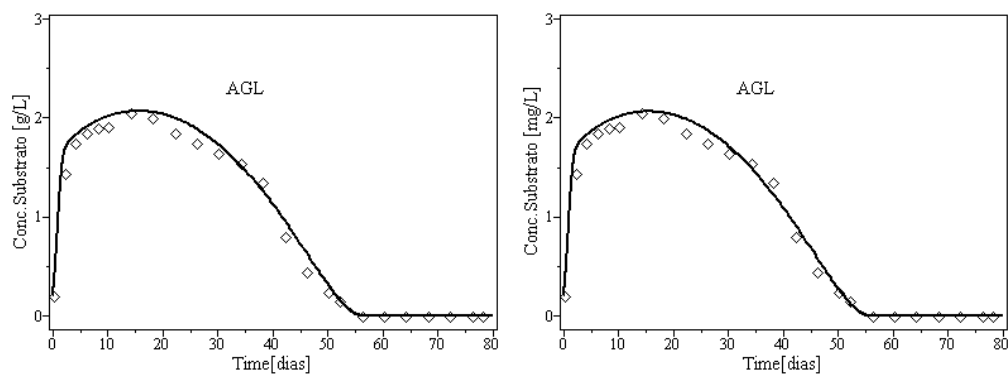


Figura 13– Geração e Consumo do Ácido Graxo Livre - Modelo SKIP (gráfico da esquerda) e Modelo de Inibição Competitiva (gráfico da direita).

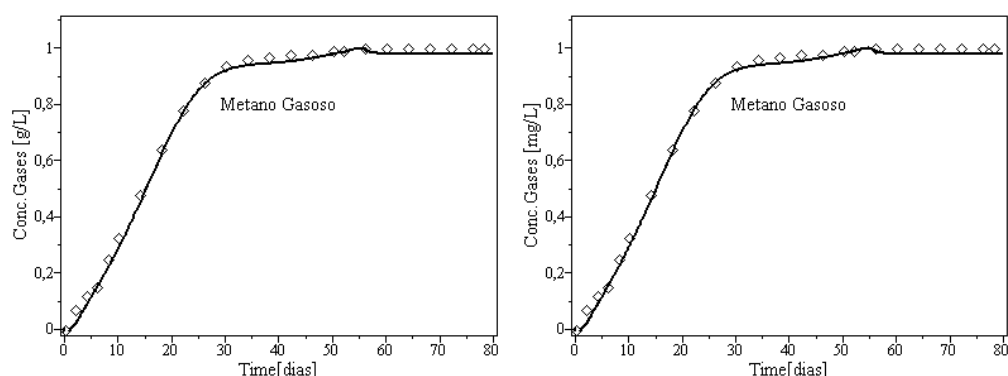


Figura 14– Geração de Metano na Fase Gasosa - Modelo SKIP (gráfico da esquerda) e Modelo de Inibição Competitiva (gráfico da direita).

A utilização simultânea, observada durante a biodegradação dos substratos ácido graxo livre e ácido oléico, corrobora com a hipótese que estes são utilizados pela mesma rota metabólica, o que sugere a presença de inibição competitiva entre estes substratos. No entanto, com o substrato ácido acético este fenômeno não é observado; pois este somente é degradado quando a concentração dos outros dois ácidos presentes já está baixa; o que sugere que a degradação do ácido acético é realizada pelas bactérias metanogênicas. Enquanto, os demais são degradados pelas bactérias acidogênicas.

Desta forma, as interações entre todos os substratos presentes, segundo as estas afirmações, não correspondem à inibição enzimática. O que torna o Modelo SKIP uma alternativa mais atraente. Isto devido sua capacidade para ajustar interações não-específicas entre dois ou mais substratos, pela incorporação do parâmetro I_{ij} , que indica o grau que o substrato “i” afeta a biodegradação do substrato “j” (TRIGUEIROS, 2008).

Esta constatação tem como aliado a estimativa das constantes de inibição do ácido acético encontradas pelos dois modelos estudados; pois, foram os únicos parâmetros com valores diferentes encontrados através da aplicação do PSO para estimativa dos mesmos. Isto conforme mostra a Tabela 10.

O crescimento microbiano, das fases do processo, apesar de não ter dados experimentais para comparação; tiveram seus parâmetros cinéticos otimizados através dos dados experimentais coletados. Uma vez, que há boa compatibilidade entre os dados experimentais e a simulação da degradação de substratos e geração de produtos, se pode afirmar que o crescimento microbiano simulado está, conseqüentemente, de acordo com o que ocorre no processo real.

Desta forma, a seguir são apresentados os perfis de crescimento microbiano, para todas as fases da biodegradação, de acordo com os modelos estudados.

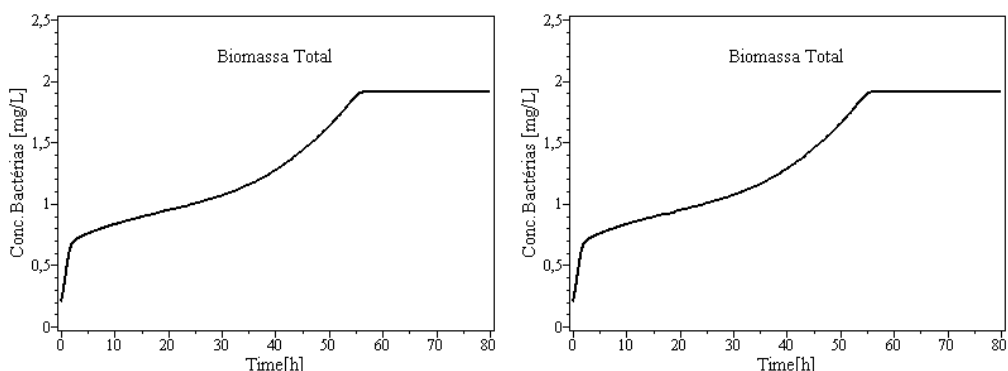


Figura 15 – Crescimento da Biomassa Total - Modelo SKIP (gráfico da esquerda) e Modelo de Inibição Competitiva (gráfico da direita).

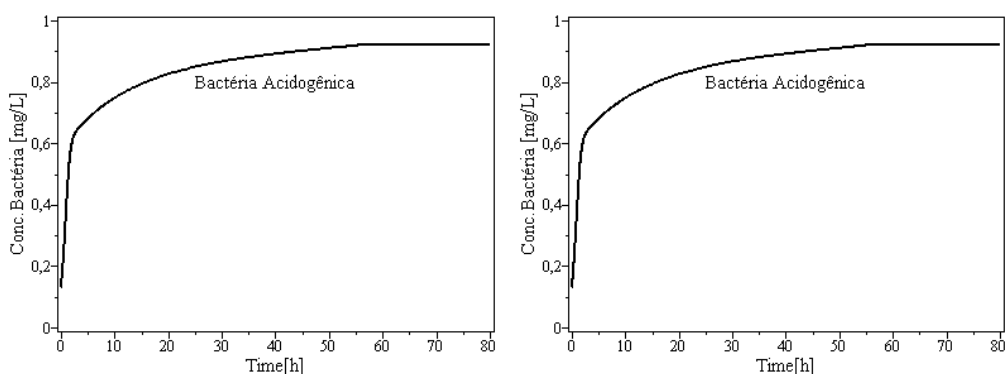


Figura 16 – Crescimento da Biomassa Acidogênica - Modelo SKIP (gráfico da esquerda) e Modelo de Inibição Competitiva (gráfico da direita).

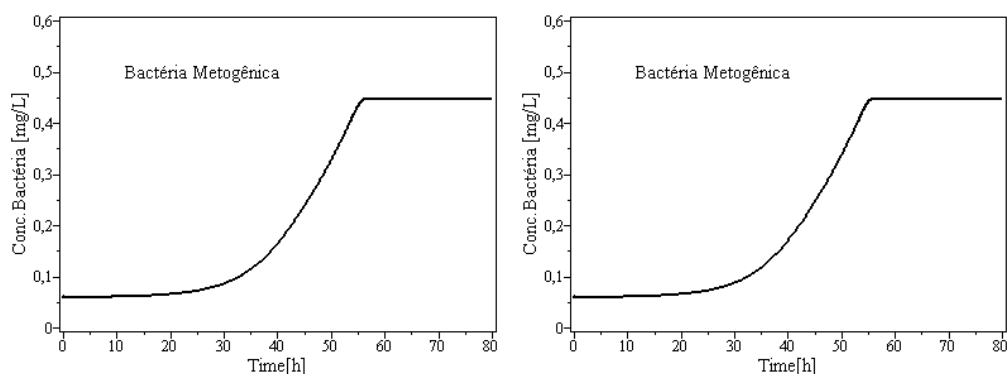


Figura 17– Crescimento da Biomassa Metanogênica - Modelo SKIP (gráfico da esquerda) e Modelo de Inibição Competitiva (gráfico da direita).

Das figuras 15 a 17, se podem verificar os perfis de crescimento microbiano da biodegradação do efluente em questão. Novamente, há uma concordância entre os modelos estudados. No entanto, mais do que esta verificação, se devem observar dois comportamentos importantes: (1) o aparecimento do comportamento diaúxico, em ambos os modelos, no crescimento da Biomassa Total, e, (2) o crescimento rápido das bactérias acidogênicas, quando comparadas com o crescimento das metanogênicas.

Da item (2), se conclui que a fase acidogênica é privilegiada durante o processo de biodegradação do efluente. Tornando a fase metanogênica o passo mais lento do processo; devido a preferência e facilidade das bactérias acidogênicas em degradar os ácidos graxos livres e ácido oléico. Principalmente, este último.

Os ótimos resultados encontrados durante a busca dos parâmetros deve-se a estimativa inicial dentro de um intervalo muito próximo dos valores ótimos; isto foi possível devido ao conhecimento da fisiologia microbiana do processo. Este conhecimento foi adquirido através das análises da literatura realizada durante o desenvolvimento deste trabalho.

Portanto, para que haja uma melhor comparação entre os modelos utilizados, será apresentada abaixo uma tabela com os valores do resíduo mínimo estimados para os modelos, na qual se verifica que o modelo SKIP proporciona o melhor resultado.

Tabela 11 – Valores das funções objetivos estimadas para a biodegradação.

Modelo	Função Objetivo
Inibição Competitiva	453,74
SKIP	396,27

Logo, pode-se afirmar que a biodegradação da mistura dos ácidos, presentes no efluente, pode ser representada pelo modelo SKIP.

Desta forma, as bactérias acidogênicas utilizam a mesma rota metabólica para metabolizar os compostos ácido graxo livre e ácido acético. No entanto, a rota metabólica seguida pelas bactérias metanogênicas para metabolizar o ácido acético é diferente da anterior. Isto justifica os resultados obtidos nas simulações, onde o modelo SKIP alcançou os melhores ajustes.

6. CONCLUSÕES

Os resultados encontrados, neste trabalho, contribuem para o desvelo da complexidade da biodegradação dos compostos tóxicos de efluentes com alto teor de lipídeos. E, mais do que isto, traz uma melhor aproximação da modelagem matemática de tal processo. Em que, as interações entre os substratos presentes, as interações entre a biomassa microbiana e mecanismos de controle foram apresentados.

Neste trabalho foram realizados experimentos de biodegradação, de efluente com alta concentração de lipídeos, com intuito de encontrar dados experimentais; que depois foram utilizados na identificação dos parâmetros cinéticos do processo. Os experimentos foram realizados em operação batelada, em reatores de 2 litros. As amostras foram retiradas em alíquotas suficientes para as análises, no período de quatro dias, consecutivos. Análises de DQO, concentração de ácidos graxos livres, concentração de ácido oléico e ácido acético foram realizadas com as alíquotas obtidas. E, com isto se pode obter os dados necessários para a identificação dos parâmetros cinéticos.

Nesta fase do trabalho, foi possível identificar a preferência pelos substratos ácido graxo livre e ácido oléico, em detrimento do ácido acético. E, como este último é o grande gerador de metano na fase gasosa, este efeito causa inibição na produção deste gás. Desta forma, este trabalho corrobora com todas as informações encontradas em trabalhos de outros autores.

Alguns autores (PEREIRA *et al.*, 2004, SHINGEMATSU *et al.*, 2006, CAVALEIRO, *et al.*, 2007, SOUZA *et al.*, 2007 e WANG *et al.*, 2009), mostram determinados problemas na biodegradação de efluentes com alta concentração de lipídeos, problemas estes relacionados com a acumulação dos lipídeos nos agregados de biomassa, tornando-os leves, flutuantes e sujeitos a serem arrastados para fora do reator; e problemas metabólicos relacionados com a idéia aceita durante anos de que lipídeos são fortemente inibidores da atividade metanogênica. Este trabalho mostrou um experimento em que um destes reatores foi colocado em agitação, através de agitador magnético a 350 rpm. No vigésimo dia a aeração foi desligada. A agitação causou o efeito inibitório da atividade metanogênica; o que foi confirmado com análises de DQO nos primeiros vinte dias de operação, pois, neste período não houve decréscimo deste parâmetro. Porém, ao se desligar a agitação iniciou-se o decréscimo. Mostrando os efeitos discutidos pelos autores citados.

Na fase posterior, foi proposta uma modelagem matemática do processo biotecnológico; modelagem esta baseada no trabalho de Keshtkar *et al.*, 2003. Pois, estes autores, modelaram o processo de biodegradação anaeróbia de um efluente rico em ácidos graxos. Que é o caso do efluente que se utilizou no experimento realizado.

No entanto, a modelagem matemática destes processos é uma tarefa bastante complexa, isto devido a identificação não-linear dos parâmetros. Como esta complexidade aumenta com o número de parâmetros a serem estimados; o Método do Enxame de Partículas (PSO) foi a alternativa mais atrativa para a identificação dos parâmetros do processo em questão. E, obteve um ótimo desempenho neste trabalho, onde o ajuste dos modelos cinéticos estudados aos dados experimentais da biodegradação dos substratos presentes no efluente mostrou-se muito eficiente. Porém, a estimativa destes parâmetros necessitou de um elevado esforço computacional e apresentou grande dificuldade na determinação dos valores ótimos. Foram empregadas 200 partículas em todas as buscas.

No Modelo de Inibição Competitiva foram obtidos quinze parâmetros estimados, já no Modelo SKIP estes parâmetros saltaram para vinte e dois; apresentando dificuldade em correlacionar cada um destes parâmetros com seu significado microbiológico, além claro, de obter os valores ótimos globais. O Modelo SKIP teve maior sucesso neste trabalho, mesmo tendo maior quantidade de parâmetros a serem estimados; isto foi comprovado pelo menor valor de função objetivo apresentada pelo Modelo. Porém, de maneira macro, e puramente de comparação visual, os dois modelos apresentam resultados parecidos. Por este motivo, a avaliação da função objetivo foi necessária.

O bom desempenho na obtenção dos resultados, particularmente no Modelo SKIP, pode ser atribuído a boa estimativa inicial dos parâmetros através do conhecimento adquirido da literatura e da fisiologia do processo, apresentada nos dados experimentais.

Os resultados mostraram a complexidade da biodegradação de mistura de substratos, e ainda, a dificuldade na descrição matemática do mesmo. Pois, foi preciso identificar através dos dados experimentais, que a fase metanogênica é uma fase lenta do processo. Desta forma, foi incorporado na modelagem cinética o termo de diauxia; uma vez que rota metabólica das bactérias presentes nesta fase é diferente da rota das

bactérias acidogênicas. O que mostrou que a fase acidogênica é a fase privilegiada pelo mecanismo metabólico.

6.1 SUGESTÕES

Os resultados mostraram que os objetivos do trabalho foram alcançados. No entanto, com o intuito de continuidade à pesquisa e trabalhos futuros seguem algumas sugestões tanto para experimentos de biodegradação, quanto à modelagem e estimativa de parâmetros cinéticos deste tipo de efluente.

Sugestões para experimentos futuros:

- Realizar biodegradação do efluente em reator com possibilidade de retirada de alíquotas na base do mesmo, para avaliação da fase de retenção;
- Utilizar um sistema com possibilidade de processo contínuo, com isto avaliar a influência da alimentação continuada de substratos nos mecanismos de biodegradação.

Sugestões para modelagem:

- Empregar modelos matemáticos para sistema contínuo;
- Desenvolver modelos matemáticos que descrevam a biodegradação na fase de retenção do reator (base), e com isto, determinar a influência deste processo na globalidade da biodegradação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAVALEIRO, A.J.V., Efeito de sobrecargas de ácido oléico na actividade de consórcios microbianos anaeróbios desenvolvidos em processos de leito fixo, dissertação de mestrado, Universidade do Minho, Portugal, 1999.
- CHERNICHARO, C. A. L., Pós Tratameto de Efluentes de Reatores Anaeróbios, 1ª Edição, Projeto PROSAB, Segrac Editora, Belo Horizonte-MG, 1997.
- D. M. GREIG. Optimization, capítulos 3-4. Longman Inc., New York, USA, 1980.
- D. E. COLDBERG, Genetic algorithms in search, optimization and machine learning, Addison Wesley, 1989.
- DORS, G., Hidrólise enzimática e biodigestão de efluentes da indústria de produtos avícolas, dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2006.
- do NASCIMENTO, R. e FRAGA, C.G., Plano de Controle Ambiental (PCA) Comil e Mascarello, Cascavel – PR, 2006.
- E. ZITZLER, K. DEB, AND L. THIELE. Comparision of multiobjective evolutionary algorithms: Empirical results. Evolutionary Computation, 8(2):173-195, 2000.
- FONTOURA, D. V. R., Contribuição à modelagem matemática do reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) para tratamento de águas residuárias, dissertação de mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2004.
- J. E. DENNIS, JR AND R. B. SCHNABEL. Numerical Methods for Unconstrained Optimization and Nonlinear Equations, capítulo 6, pp. 111-152. Prentice-Hall, 1983.
- J. KNOWLES AND D. CORNE. Approximating the non-dominated front using the pareto archived evolution strategy. Evolutionary Computation, 8(2):149-172, 2000.
- J. KENNEDY AND R. EBERHART. Swarm Intelligence. Morgan Kaufmann Publishers, California, USA, 2001.
- J. KENNEDY AND R. MENDES. Population structure and particle swarm performance. In Congress on Evolutionary Computation, Volume 2, páginas 1671-1676, Piscataway, NJ, Maio de 2002. IEEE Service Center.
- J. KENNEDY AND R. EBERHART. Particle swarm optimization. In Proc. of the IEEE Int. Conf. on Neural Networks, páginas 1942-1948, Piscataway, NJ., 1995. IEEE Service Center.
- KESHTKAR, A., MEYSSAMI, B., ABOLHAMD, G., GHAFORIANA, H., ASADIA , M. K., Mathematical modeling of non-ideal mixing continuous flow reactors for anaerobic digestion of cattle manure, Elsevier Science Lt, 2001.

- M. LAUMANN, E. ZITZLER, AND L. THIELE. A unified model for multi-objective evolutionary algorithms with elitism. Congress on Evolutionary Computation (CEC), páginas 46-53, Piscataway, NJ, 2000. IEEE Service Center.
- OLIVEIRA, A. S. D., Método para a viabilização da implantação de plano de gerenciamento integrado de resíduos sólidos: o caso do município do Rio Grande – RS, tese de doutorado, Universidade Estadual de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2002.
- PEREIRA, M.A.A. de S., Anaerobic biodegradation of long chain fatty acids, tese de doutorado, Universidade do Minho, Portugal, 2003.
- RIBEIRO, N.J.M. da S., Estudos dinâmicos do processo de digestão anaeróbia com vista ao desenvolvimento de um sistema inteligente de supervisão baseado em conhecimento, dissertação de mestrado, Universidade do Minho, Portugal, 1999.
- REEVES, C. R. Modern Heuristic Techniques for Combinatorial Problems. New York McGraw- Hill International. 1995. 320p.
- SUCUPIRA, IGOR RIBEIRO. Métodos heurísticos genéricos: metaheurísticas e hiperheurísticas. 2004. 50f. Monografia de Conclusão de Curso (Graduação em Ciência da Computação) - Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo.
- SHI, YUHUI. Particle Swarm Optimization. Em: Proceedings of the IEEE Neural Network Society. p. 8 – 13, 2004.
- POLTOSI, MAIRA. Programando Soluções para Problemas de Otimização Combinatória. No Congresso Simulado de Técnicas de Programação, São Leopoldo, 2006.
- TRIGUEIROS, D.E.G., Avaliação da cinética de biodegradação dos compostos tóxicos benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno (BETX) e fenol, dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo – PR, 2008.
- WU, Q., Mathematical modeling analysis of floating bead biofilter applications to domestic wastewater treatment, tese de mestrado, Department of civil and environmental engineering, B.S. Xiang Tan University, Beijing, 2003.
- XAVIER, J.B., PICIOREANU, C., ALMEIDA, J.S., van LOOSDRECHT, M.C.M, Monitorização e modelação de estrutura de biofilmes, Biomatemática – Modelação de estrutura de biofilme, 2004.

8. ANEXOS

Neste capítulo são apresentadas as metodologias analíticas empregadas na obtenção dos dados experimentais, bem como o descritivo de materiais e reagentes necessários para tais análises. Também, são mostradas todas as formas de preparo das soluções utilizadas.

8.1 Identificação do Índice de Ácidos Graxos Livres

Materiais e Equipamentos

- BALANÇA ANALÍTICA (PRECISÃO $\pm 0,001$ G)
- BALÃO VOLUMÉTRICO DE 100 ML
- BASTÃO DE VIDRO
- BECKER DE 250 OU 300 ML
- BURETA DE 20 ML
- ERLLENMEYER DE 250ML OU 300 ML
- FUNIL ANALÍTICO
- PAPEL FILTRO QUALITATIVO
- PROVETA DE 100 OU 200 ML

Reagentes e Soluções

- ÁLCOOL ETÍLICO ABSOLUTO (C_2H_5OH) P.A
- ÉTER ETÍLICO ($C_2H_5OC_2H_5$) P.A
- FENOLFTALEÍNA P.A.
- HIDRÓXIDO DE SÓDIO (NaOH) P.A.

SOLUÇÃO ALCOÓLICA INDICADORA DE FENOLFTALEÍNA 1%

Dissolver 1,0g de fenolftaleína p.a. em aproximadamente 60 mL de álcool etílico p.a. Transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume e homogeneizar.

SOLUÇÃO REAGENTE ÉTER - ÁLCOOL 1+1 NEUTRALIZADO:

Misturar 100 ml de éter etílico p.a com 100 ml de álcool etílico absoluto p.a. Adicionar 5 gotas da solução indicadora de fenolftaleína 1% e com agitação constante, gotear solução de hidróxido de sódio 0,1 N até coloração levemente rósea.

SOLUÇÃO VOLUMÉTRICA PADRONIZADA DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO 0,1 N

Pesar cerca de 4,1 g de NaOH p.a. e dissolver em água destilada. Transferir quantitativamente para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume e homogeneizar.

PADRONIZAÇÃO

Pesar exatamente 0,4g de biftalato de potássio p.a previamente seco em estufa a 120°C por duas horas. Dissolver em erlenmeyer com aproximadamente 75 mL de água destilada. Adicionar 5 gotas de solução indicadora de fenolftaleína 1% e titular gotejando a solução de NaOH 0,1 N até coloração levemente rósea.

CÁLCULO DO FATOR:

$$NR = \frac{P}{V \times E}$$

$$F = \frac{NR}{NE}$$

ONDE: P = Peso do biftalato de potássio em miligrama

V = Volume gasto na titulação em mL

E = Equivalente grama do biftalato de potássio

F = Fator de correção

NR = Normalidade Real

NE = Normalidade Esperada

Procedimento:

1 – Pesar 5g de amostra em erlenmeyer ou Becker de 250 mL.

2 – Adicionar 100 mL da solução éter – álcool 1 + 1 neutralizado e agitar até completa dissolução.

3 – Filtrar o sobrenadante sobre papel de filtro para erlenmeyer de 300 ml (isto no caso de farinhas).

4 – Adicionar 4 a 5 gotas de solução indicadora de fenolftaleína e titular com solução de NaOH 0,1 N até coloração rósea persistente por 30 segundos.

CÁLCULO

$$\text{ácidez em meq NaOH \% / g amostra} = \frac{V \times N \times F \times 40}{P}$$

Onde :

V = Volume NaOH 0,1 N gasto na titulação

N = Normalidade

F = Fator de correção

P = Peso da amostra em grama

40 = Miliequivalente - NaOH

Observações:

- Amostras de difícil dissolução, levar ao banho-maria após a pesagem, evitando o excesso de aquecimento que pode provocar elevação do valor de ácidos graxos livres.

- A solução éter - álcool neutralizado deve ser preparado momentos antes do uso.

- Conduzir prova em branco para testar os reagentes empregados.

- Manter o frasco da solução éter - álcool fechado, para evitar a formação de ácido carbônico.

8.2 Identificação do Índice de Ácido Oléico

Materiais e Equipamentos

- BALANÇA ANALÍTICA (PRECISÃO $\pm 0,001$ G)
- BALÃO VOLUMÉTRICO DE 100 ML

- BASTÃO DE VIDRO
- BECKER DE 250 OU 300 ML
- BURETA DE 20 ML
- ERLLENMEYER DE 250ML OU 300 ML
- FUNIL ANALÍTICO
- PAPEL FILTRO QUALITATIVO
- PROVETA DE 100 OU 200 ML

Reagentes e Soluções

- ÁLCOOL ETÍLICO ABSOLUTO (C_2H_5OH) P.A
- ÉTER ETÍLICO ($C_2H_5OC_2H_5$) P.A
- FENOLFTALEÍNA P.A.
- HIDRÓXIDO DE SÓDIO (NaOH) P.A.

SOLUÇÃO ALCOÓLICA INDICADORA DE FENOLFTALEÍNA 1%

Dissolver 1,0g de fenolftaleína p.a. em aproximadamente 60 mL de álcool etílico p.a. Transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume e homogeneizar.

SOLUÇÃO REAGENTE ÉTER - ÁLCOOL 2+1 NEUTRALIZADO:

Misturar 200 ml de éter etílico p.a com 100 ml de álcool etílico absoluto p.a. Adicionar 5 gotas da solução indicadora de fenolftaleína 1% e com agitação constante, gotejar solução de hidróxido de sódio 0,1 N até coloração levemente rósea.

SOLUÇÃO VOLUMÉTRICA PADRONIZADA DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO 0,1 N

Pesar cerca de 4,1 g de NaOH p.a. e dissolver em água destilada. Transferir quantitativamente para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume e homogeneizar.

PADRONIZAÇÃO

Pesar exatamente 0,4g de biftalato de potássio p.a previamente seco em estufa a 120°C por duas horas. Dissolver em erlenmeyer com aproximadamente 75 mL de água destilada. Adicionar 5 gotas de solução indicadora de fenolftaleína 1% e titular gotejando a solução de NaOH 0,1 N até coloração levemente rósea.

CÁLCULO DO FATOR:

$$NR = \frac{P}{V \times E}$$

$$F = \frac{NR}{NE}$$

ONDE: P = Peso do biftalato de potássio em miligrama

V = Volume gasto na titulação em mL

E = Equivalente grama do biftalato de potássio

F = Fator de correção

NR = Normalidade Real

NE = Normalidade Esperada

Procedimento:

- 1 – Pesar 5g de amostra em erlenmeyer ou Becker de 250 mL.
- 2 – Adicionar 100 mL da solução éter – álcool 2 + 1 neutralizado e agitar até completa dissolução.
- 3 – Filtrar o sobrenadante sobre papel de filtro para erlenmeyer de 300 Ml (isto no caso de farinhas).
- 4 – Adicionar 4 a 5 gotas de solução indicadora de fenolftaleína e titular com solução de NaOH 0,1 N até coloração rósea persistente por 30 segundos.

CÁLCULO

$$\text{ácido oléico / g amostra} = \left(\frac{V \times N \times F \times 0,282}{P} \right) \times 100$$

Onde :

V = Volume NaOH 0,1 N gasto na titulação

N = Normalidade

F = Fator de correção

P = Peso da amostra em grama

0,282 = Miliequivalente - grama do ácido oléico

Observações:

- Amostras de difícil dissolução, levar ao banho-maria após a pesagem, evitando o excesso de aquecimento que pode provocar elevação do valor de ácidos graxos livres.

- A solução éter - álcool neutralizado deve ser preparado momentos antes do uso.

- Conduzir prova em branco para testar os reagentes empregados.

- Manter o frasco da solução éter - álcool fechado, para evitar a formação de ácido carbônico.

8.3 Identificação do Índice de Ácido Acético

Materiais e Equipamentos

- BALANÇA ANALÍTICA (PRECISÃO $\pm 0,001$ G)
- BALÃO VOLUMÉTRICO DE 100 ML
- BASTÃO DE VIDRO
- BECKER DE 250 OU 300 ML
- BURETA DE 20 ML
- ERLLENMEYER DE 250ML OU 300 ML
- FUNIL ANALÍTICO
- PAPEL FILTRO QUALITATIVO
- PROVETA DE 100 OU 200 ML

Reagentes e Soluções

- ÁLCOOL ETÍLICO ABSOLUTO (C_2H_5OH) P.A

- ÁGUA DESTILADA E DEIONIZADA
- FENOLFTALEÍNA P.A.
- HIDRÓXIDO DE SÓDIO (NAOH) P.A.

SOLUÇÃO ALCOÓLICA INDICADORA DE FENOLFTALEÍNA 1%

Dissolver 1,0g de fenolftaleína p.a. em aproximadamente 60 mL de álcool etílico p.a. Transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume e homogeneizar.

SOLUÇÃO REAGENTE ÁGUA - ÁLCOOL 1+1 NEUTRALIZADO:

Misturar 100 ml de água destilada com 100 ml de álcool etílico absoluto p.a. Adicionar 5 gotas da solução indicadora de fenolftaleína 1% e com agitação constante, gotejar solução de hidróxido de sódio 0,1 N até coloração levemente rósea.

SOLUÇÃO VOLUMÉTRICA PADRONIZADA DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO 0,1 N

Pesar cerca de 4,1 g de NaOH p.a. e dissolver em água destilada. Transferir quantitativamente para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume e homogeneizar.

PADRONIZAÇÃO

Pesar exatamente 0,4g de biftalato de potássio p.a previamente seco em estufa a 120°C por duas horas. Dissolver em erlenmeyer com aproximadamente 75 mL de água destilada. Adicionar 5 gotas de solução indicadora de fenolftaleína 1% e titular gotejando a solução de NaOH 0,1 N até coloração levemente rósea.

CÁLCULO DO FATOR:

$$NR = \frac{P}{V \times E}$$

$$F = \frac{NR}{NE}$$

ONDE: P = Peso do biftalato de potássio em miligrama

V = Volume gasto na titulação em mL

E = Equivalente grama do biftalato de potássio

F = Fator de correção

NR = Normalidade Real

NE = Normalidade Esperada

Procedimento:

1 – Pesar 5g de amostra em erlenmeyer ou Becker de 250 mL.

2 – Adicionar 100 mL da solução água – álcool 1 + 1 neutralizado e agitar até completa dissolução.

3 – Filtrar o sobrenadante sobre papel de filtro para erlenmeyer de 300 ML (isto no caso de farinhas).

4 – Adicionar 4 a 5 gotas de solução indicadora de fenolftaleína e titular com solução de NaOH 0,1 N até coloração rósea persistente por 30 segundos.

CÁLCULO

$$\text{ácido acético / g amostra} = \left(\frac{V \times N \times F \times 0,06}{P} \right) * 100$$

Onde :

V = Volume NaOH 0,1 N gasto na titulação

N = Normalidade

F = Fator de correção

P = Peso da amostra em grama

0,06 = Miliequivalente - grama do ácido acético

Observações:

- Amostras de difícil dissolução, levar ao banho-maria após a pesagem, evitando o excesso de aquecimento que pode provocar elevação do valor de ácidos graxos livres.

- A solução éter - álcool neutralizado deve ser preparado momentos antes do uso.

- Conduzir prova em branco para testar os reagentes empregados.

- Manter o frasco da solução éter - álcool fechado, para evitar a formação de ácido carbônico.