

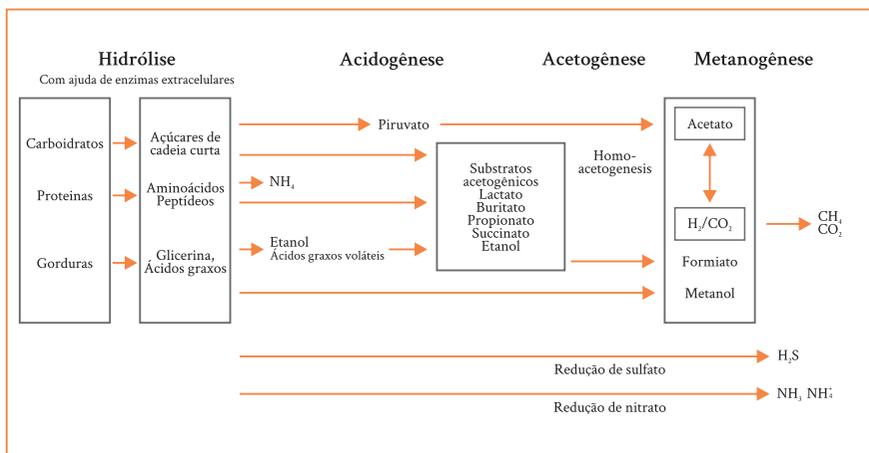
Capítulo I

O PROCESSO DE BIODIGESTÃO

*André Cestonaro do Amaral
Ricardo Luis Radis Steinmetz
Airton Kunz*

Introdução

A digestão anaeróbia é um processo metabólico complexo que requer condições anaeróbias (potencial redox < -200 mV) e depende da atividade conjunta de uma associação de microrganismos para transformar material orgânico em dióxido de carbono e metano. O processo pode ser dividido em quatro fases, sendo: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. Cada etapa é realizada por diferentes grupos de microrganismos, em sintrofia, e podem requerer diferentes condições ambientais (Figura 1).



Fonte: Adaptado de Deublein e Steinhauser (2011).

Figura 1. Processos de hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese.

Hidrólise

A etapa da hidrólise degrada compostos de alta massa molecular como os lipídios, polissacarídeos e proteínas em substâncias orgânicas mais simples (monômeros) e solúveis. Esse processo ocorre pela ação de enzimas extracelulares excretadas pelas bactérias hidrolíticas. A importância da etapa de hidrólise na velocidade de degradação é dependente da característica do substrato envolvido. Quando a matéria orgânica presente é complexa e de difícil degradação, a hidrólise tem grande importância na velocidade global de degradação, podendo ser considerada como etapa limitante da velocidade da digestão anaeróbia. O tempo de duração da etapa de hidrólise varia de acordo com as características do substrato, sendo de poucas horas para carboidratos e alguns dias para proteínas e lipídios. Lignocelulose e lignina são hidrolisadas mais lentamente, muitas vezes de maneira incompleta.

Acidogênese

Os monômeros formados na fase hidrolítica são utilizados como substratos por diferentes bactérias anaeróbias e facultativas, sendo degradados na fase acidogênica a ácidos orgânicos de cadeia curta, molé-

culas com 1 a 5 carbonos (ex. ácidos butírico, propionico e acético), álcoois, óxidos de nitrogênio, sulfeto de hidrogênio, hidrogênio e dióxido de carbono. A pressão parcial de hidrogênio durante o processo afeta diretamente o estado de oxidação dos produtos. Se for muito elevada, resultarão em produtos com maior quantidade de carbono.

Na acidogênese, os carboidratos, como glicose, são degradados em piruvato. Esse produto é convertido em ácido láctico por *Lactobacillales* e em etanol pela ação de leveduras. Os ácidos graxos são degradados, por exemplo, pela *Acetobacter* por β -oxidação. Portanto, os ácidos graxos devem ser ligados a coenzima A e a oxidação ocorre passo a passo através da liberação sequencial de duas unidades de carbono, na forma de acetato. Já os aminoácidos são degradados em pares pelo *Clostridium Botulinum* através da reação de Stickland (Figura 2), onde um aminoácido serve como doador de elétron e outro comoceptor. Essa reação resulta na formação de acetato, amônia, dióxido de carbono e sulfeto de hidrogênio.

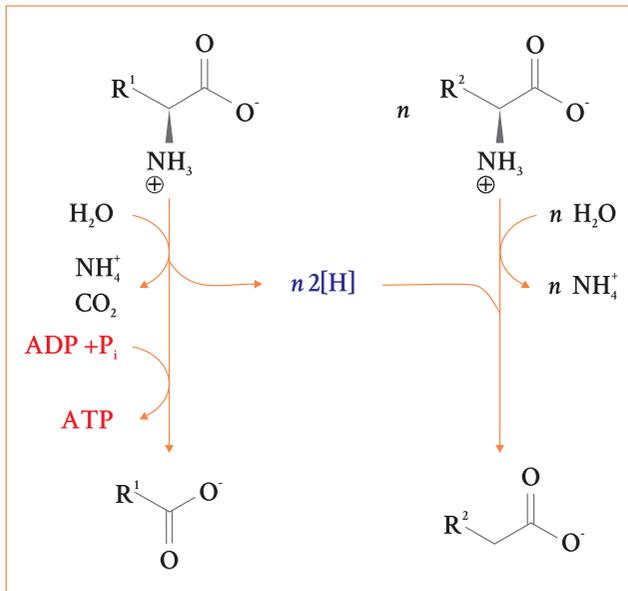


Figura 2. Exemplo de reação de Stickland, onde um par de aminoácidos é degradado, formando acetato, amônia e dióxido de carbono.

Acetogênese

A terceira etapa da digestão anaeróbia é considerada crítica ao processo, sendo conduzida por um grupo de bactérias denominadas acetogênicas. As reações acetogênicas são endotérmicas (Tabela 1), por exemplo, a degradação do ácido propiônico a acetato e dióxido de carbono apresenta $\Delta G = + 74 \text{ kJ.mol}^{-1}$.

Tabela 1. Reações acetogênicas. Decomposição a elementos de baixo peso molecular.

Nome	Ácido conjugado	Reação química/composto químico	ΔG (kJ.mol ⁻¹)
Dióxido de carbono/ hidrogênio		$2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O}$	-104,6
Formiato	Ácido fórmico	HCOOH	
Acetato	Ácido acético	CH ₃ COOH	
Propionato	Ácido propiônico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COOH} + \text{CO}_2 + 3\text{H}_2$	+76,1
Butirato	Ácido butírico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons 2\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$	+48,1
Lactato	Ácido láctico	$\text{CH}_3\text{CHOHCOOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COOH} + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	-4,2
	Etanol	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$	+9,6

Fonte: Adaptado de Deublein e Steinhauser (2011); Chernicharro (2007).

As bactérias acetogênicas estabelecem relação de simbiose com as arqueas metanogênicas e as bactérias homoacetogênicas. Nessa etapa os ácidos de cadeia longa são transformados em ácidos com apenas um ou dois átomos de carbono (fórmico e acético), com a concomitante produção de hidrogênio e dióxido de carbono. As bactérias homoacetogênicas regem o equilíbrio da direção da reação de consumo de hidrogênio e gás carbônico para produção de acetato (Equação 1). Para que a formação de ácidos de cadeia curta seja termodinamicamente favorável, esta deve ocorrer associada ao consumo de hidrogênio gasoso pelas arqueas metanogênicas. A simbiose entre organismos dos grupos microbianos distintos possibilita que ambos apresentem crescimento, assegurando a viabilidade de produção de acetato a partir de ácidos orgânicos.



Metanogênese

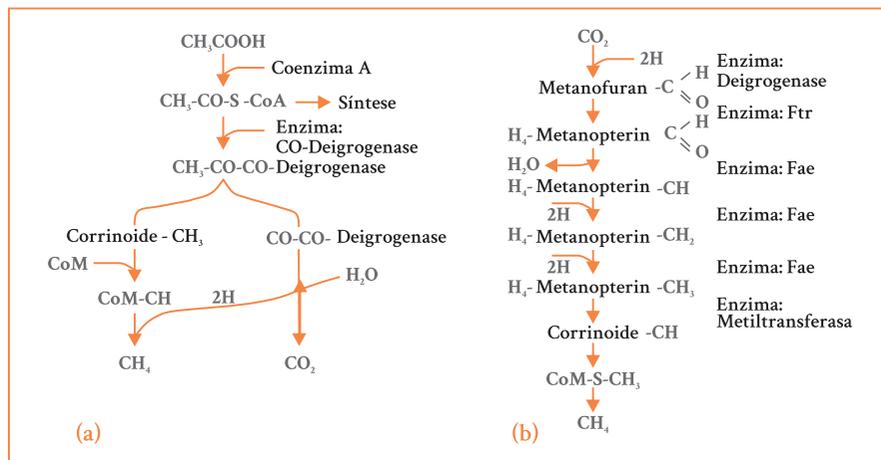
A etapa final, metanogênese, ocorre em condições estritamente anaeróbias. Deste modo, o carbono contido na biomassa é convertido a dióxido de carbono e metano através da ação das arqueas metanogênicas. O domínio arquea é polimórfico, de modo que possa ser distinguida a partir dos outros domínios apenas pela sequência de 16S rRNA. As reações que ocorrem na metanogênese são exotérmicas (Tabela 2).

Tabela 2. Reações acetogênicas. Decomposição a elementos de baixo peso molecular.

Reação química	ΔG (kJ.mol ⁻¹)	Nome
$4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	-135,4	Várias espécies
$\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightleftharpoons \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	-131,0	
$4\text{HCOO}^- + \text{H}_2\text{O} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{CH}_4 + 3\text{HCO}_3^-$	-130,4	Várias espécies
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	-30,9	Algumas espécies
$4\text{CH}_3\text{OH} \rightleftharpoons 3\text{CH}_4 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$	-314,3	
$\text{CH}_3\text{OH} + \text{H}_2 \rightleftharpoons \text{CH}_4 + \text{H}_2\text{O}$	-113,0	<i>Methanobacterium</i> <i>Methanospirillum</i>
$2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{CO}_2 \rightleftharpoons \text{CH}_4 + 2\text{CH}_3\text{COOH}$	-116,3	<i>Methanosarcina</i>

Fonte: Adaptado de Deublein e Steinhauser (2011).

As arqueas metanogênicas são divididas de acordo com suas vias metabólicas em acetoclástica e hidrogenotróficas. As arqueas metanogênicas acetoclásticas (ex. *Methanosarcina*) convertem acetato a metano e as arqueas metanogênicas hidrogênótóricas (ex. *Methanobacterium* e *Methanospirillum*) convertem hidrogênio e dióxido de carbono a metano. Ambas reações são exotérmicas. Os caminhos para formação de metano via acetato ou dióxido de carbono são apresentados na Figura 3.



Fonte: Adaptado de Deublein e Steinhauser (2011).

Figura 3. (a) Formação de metano pelo acetato; (b) formação de metano pelo dióxido de carbono. CoA = coenzima A; CoM = coenzima M.

Muitos autores relatam a colaboração de 70/30% na produção de metano entre as arqueas metanogênicas acetoclásticas/hidrogenotróficas. Porém, trabalhos recentes mostram o dinamismo dessa relação (Silva et al., 2014). As arqueas metanogênicas acetoclásticas são mais sensíveis às mudanças de pH e elevadas concentrações de amônia, a qual é característica de substratos agropecuários (diferente de esgoto sanitário). Esse fato pode implicar no predomínio das arqueas metanogênicas hidrogenotróficas. Na ausência das metanogênicas acetoclásticas, o acetato produzido durante a biodigestão é oxidado pelas bactérias homoacetogênicas produzindo CO_2 e H_2 (Figura 1), os quais são utilizados como substrato pelas arqueas metanogênicas hidrogenotróficas, produzindo metano.

Parâmetros do processo

O metabolismo dos microrganismos anaeróbios mesofílicos são dependentes de diversos fatores (Tabela 3), com isso, para um ótimo processo de fermentação, múltiplos parâmetros devem ser considerados e controlados.

Tabela 3. Requisitos ambientais dos microrganismos anaeróbios mesofílicos.

Parâmetros	Hidrólise/Acidogênes	Metanogênese
Temperatura	25 - 35	32 - 42
pH	5,2 - 6,3	6,7 - 7,5
Relação C:N	10-45	20-30
Concentração de matéria seca (%)	<40	<30
Potencial Redox (mV)	+ 400 até - 300	<-200
Relação de C:N:P:S necessária	500 : 15 : 5 : 3	600 : 15 : 5 : 3
Elementos traços	-	Essencial: Ni, Co, Mo, Se

Fonte: Adaptado de Wellinger et al., 2013.

Pressão parcial de hidrogênio

A pressão parcial de hidrogênio desempenha um papel chave na metanogênese. Sendo assim, uma simbiose estreita entre os microrganismos produtores de H_2 e consumidores de H_2 se faz necessário. Em geral, para que uma reação bioquímica ocorra de maneira espontânea, necessita ser exotérmica, ou seja, a energia livre de Gibbs deve ser negativa ($\Delta G < 0$).

A concentração de hidrogênio deve ser balanceada, pois os microrganismos metanogênicos necessitam de hidrogênio para produção de metano (arqueas metanogênicas hidrogenotróficas). Por outro lado, a pressão parcial de hidrogênio deve ser baixa suficiente (10^{-4} a 10^{-6} bar) para que as bactérias acetogênicas não sejam inibidas pelo excesso de hidrogênio, paralisando a produção de ácidos de cadeia curta.

A pressão parcial de hidrogênio máxima depende das espécies de microrganismos envolvidos e também das características do substrato. Para conversão anaeróbia do propionato via ácido acético e dióxido de carbono/hidrogênio para metano, a janela energética é especialmente pequena. As baixas pressões parciais só podem ser mantidas se o hidrogênio formado for rapidamente e efetivamente removido pelos microrganismos consumidores de hidrogênio.

Temperatura

A temperatura tem efeitos importantes nas propriedades físico-químicas de componentes encontrados nos substratos anaeróbios. Também influencia a velocidade de crescimento e metabolismo dos microrganismos, e com isso, a dinâmica populacional em um biodigestor. Os microrganismos podem ser classificados de acordo com a temperatura, em três grandes grupos (Tabela 4).

Tabela 4. Classificação dos microrganismos de acordo com a temperatura.

	Ótima de crescimento (°C)
Termofílicos	60
Mesofílicos	37
Psicrofílicos	15

As arqueas metanogênicas acetoclásticas são o grupo mais sensível ao aumento de temperatura. A temperatura tem um efeito na pressão parcial de hidrogênio em um biodigestor, portanto influencia a cinética do metabolismo sintrófico. Termodinamicamente, observa-se que as reações endotérmicas (em condições padrão), como a quebra do propionato em acetato, dióxido de carbono e hidrogênio, se tornam energeticamente mais favoráveis em altas temperaturas, entretanto, quando as reações são exotérmicas (ex. metanogênicas hidrogenotróficas) são menos favorecidas em altas temperaturas.

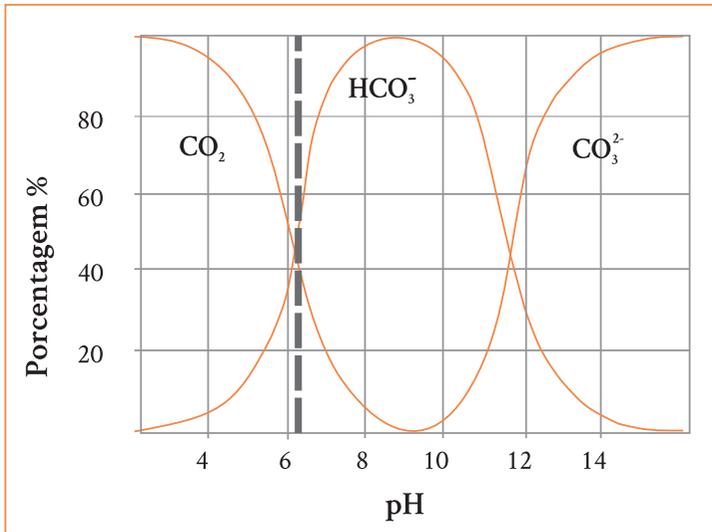
O aumento de temperatura tem inúmeros benefícios, incluindo um aumento na solubilidade de compostos orgânicos, melhorando as velocidades de reações bioquímicas. Também há um aumento na taxa de eliminação de patógenos. Porém, a temperatura influencia parâmetros como a dissociação da amônia, podendo ter um efeito inibitório (Kunz e Saqib, 2016). À medida em que a temperatura aumenta, o equilíbrio químico é deslocado de NH_4^+ para NH_3 (aquoso), podendo causar falência no processo. A amônia livre é tóxica às arqueas metanogênicas, pois facilmente se difunde através da membrana celular dos microrganismos, causando desequilíbrio iônico e/ou deficiência de potássio (K^+).

Em regiões com grande amplitude térmica, a produção de biogás pode ser comprometida devido às elevadas variações de temperaturas. Para evitar possíveis problemas, a temperatura do reator não deve variar bruscamente mais do que 2 °C. É de fundamental importância o controle da temperatura da biomassa, a fim de garantir a uniformidade da geração de biogás.

pH, alcalinidade e ácidos voláteis

Cada grupo de microrganismo tem um valor diferente de pH ótimo. As arqueas metanogênicas são extremamente sensíveis ao pH, com um valor ótimo entre 6,7 e 7,5. Os microrganismos fermentativos são menos sensíveis e podem se adaptar a maiores variações de pH entre 4,0 e 8,5. Em baixos valores de pH os principais produtos são os ácidos acético e butírico, enquanto que em pH próximo a 8,0, os principais produtos são os ácidos acético e propiônico. Os ácidos voláteis produzidos durante a biodigestão tendem a reduzir o pH do meio reacional. Essa redução é normalmente combatida pela atividade das arqueas metanogênicas, que também produzem alcalinidade na forma de dióxido de carbono, amônia e bicarbonato.

O pH do sistema é controlado pela concentração de dióxido de carbono na fase gasosa e HCO_3^- -alcalino na fase líquida (Figura 4). Durante a biodigestão, o CO_2 é continuamente liberado como gás. Se o pH do sistema diminuir excessivamente, uma maior quantidade de CO_2 permanecerá dissolvido no meio reacional. Se o pH do sistema aumentar, o CO_2 dissolvido formará ácido carbônico, assim íons de hidrogênio serão liberados (Deublein; Steinhauser, 2011).



Fonte: Adaptado de Deublein e Steinhauser (2011).

Figura 4. Equilíbrio químico entre dióxido de carbono - íon bicarbonato - íon carbonato.

Em pH 4, quase todo CO_2 estará na forma de molécula livre; já em pH 13, quase todo CO_2 estará dissolvido na forma de carbonato no substrato. O ponto de equilíbrio químico entre as formas gasosas e solúveis no sistema ocorrerá em pH 6,52 (Figura 4). Logo, o aumento do pH resultará em menor concentração de CO_2 na fase gasosa. Em concentrações de 2,5 – 5 g.L⁻¹ o bicarbonato tem forte efeito de tamponamento.

A maioria dos problemas na digestão anaeróbia pode ser atribuída ao acúmulo de ácidos voláteis e, consequentemente, a queda do pH. Os principais efeitos adversos dos ácidos orgânicos voláteis (AOVs) no processo de digestão anaeróbia são relacionados ao fato de serem espécies intermediárias. A diminuição do pH abaixo de 6,6 implica na inibição do crescimento das arqueas metanogênicas. No entanto, as bactérias acidogênicas continuam suas funções até pH 4,5. O resultado é um rápido acúmulo de AOVs.

Uma estratégia para o controle do sistema de tamponamento e monitoramento indireto dos ácidos produzidos durante a digestão anaeróbia é a relação alcalinidade intermediária/alcalinidade parcial (AI/AP), sendo que a primeira fornece valores equivalentes à alcalinidade por bi-

carbonato, enquanto que a segunda à alcalinidade vinda dos ácidos voláteis. Na Tabela 5 podemos observar a importância do acompanhamento da relação AI/AP, onde são apresentadas as relações e as características do reator segundo a experiência empírica.

Tabela 5. Evolução da relação AI/AP e características do reator.

Relação AI/AP	Característica do reator
>0,4	Reator em sobrecarga
0,3 – 0,4	Faixa ótima
< 0,3	Reator em subcarga

Fonte: Adaptado de Mézes, et al. (2011).

O valor ótimo pode variar dependendo das características do reator e substrato. É recomendado acompanhar a relação AI/AP constantemente, pois o mais importante é observar variações bruscas e realizar medidas corretivas quando necessário.

Nutrientes

As células dos microrganismos anaeróbios contêm nitrogênio, fósforo e enxofre nas proporções aproximadas de 12, 2 e 1%, respectivamente, de matéria seca. Para o processo anaeróbio são necessárias relações de 700:5:1 de demanda biológica de oxigênio, N e P. Os íons de enxofre, potássio, cálcio, magnésio, cloro e sulfato são necessários para o bom funcionamento da digestão anaeróbia. Elementos traços como ferro, cobre, zinco, magnésio, molibdênio e vanádio são importantes para o crescimento celular.

Os compostos de enxofre podem causar problemas para o processo anaeróbio, pois causam a precipitação de nutrientes essenciais em níveis traços como ferro, níquel, cobre e molibdênio, que são insolúveis em baixos potenciais redox (precipitação como sulfeto). Íons de metais pesados como Cu^{++} e Zn^{++} , íons metais alcalinos e alcalinos terrosos e NH_4^+ também podem causar efeitos inibitórios. A toxicidade é reversível em muitos casos e observa-se um elevado potencial de aclimação quando é dado tempo suficiente aos microrganismos anaeróbios.

Nitrogênio amoniacal e amônia livre

A amônia é um nutriente essencial para o crescimento dos microrganismos anaeróbios, mas também pode ser tóxica em concentrações elevadas. A fermentação de materiais ricos em ureia e proteínas libera amônia. Em função do pH e temperatura do meio reacional, pode-se ter uma geração elevada de amônia livre (De Prá et al. 2013). O equilíbrio químico do sistema para formação de amônia livre (AL) pode ser calculado através da Equação 2.

$$AL (NH_3, mg/L) = \frac{17}{14} \times \frac{[total\ de\ amônia\ como\ N] \cdot 10^{pH}}{e^{[6344/(273+T(^{\circ}C))] + 10^{pH}}}$$

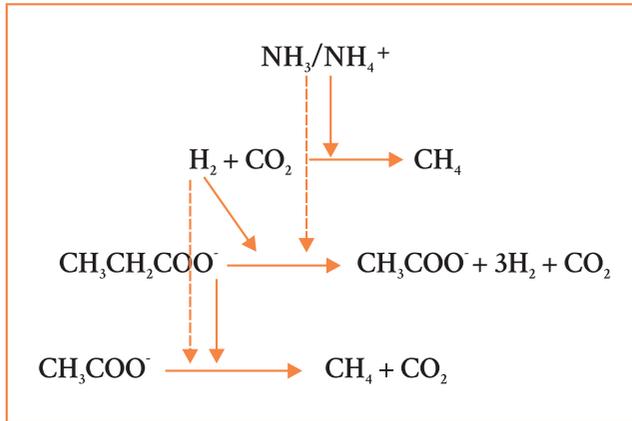
Equação 2

A Tabela 6 apresenta a relação entre pH e temperatura com a concentração de amônia livre em um efluente de elevada concentração de nitrogênio amoniacal, utilizando-se a Equação 2.

Tabela 6. Efeito do pH e temperatura na concentração de amônia livre(AL) em efluente com elevada concentração de nitrogênio amoniacal.

N-NH ₃ (mg.L ⁻¹)	pH do reator	Temperatura (°C)	AL (mg.L ⁻¹)
3.000	5	20	0,14
3.000	7	20	14,34
3.000	9	20	1.031,68
3.000	5	37	0,47
3.000	7	37	46,58
3.000	9	37	2.055,77
3.000	5	55	0,15
3.000	7	55	139,51
3.000	9	55	2.911,66

A amônia livre é tóxica às arqueas metanogênicas, pois facilmente se difunde através da membrana celular dos microrganismos. Abaixo é apresentado um esquema para exemplificar a ação inibitória da amônia livre (Figura 5), onde as setas contínuas indicam inibição da reação e as setas tracejadas indicam possíveis ações inibitórias.



Fonte: Wiegant e Zeeman (1986).

Figura 5. Esquema proposto para explicar a ação inibitória da amônia livre. Setas horizontais: reações inibidas; Setas verticais: Ação inibitória. Setas pontilhadas indicam possíveis ações inibitórias.

A literatura apresenta inibição da digestão anaeróbia em diferentes concentrações de amônia livre. Garcia e Angenent (2009) estudaram a digestão de dejetos suínos e reportaram inibição na produção de metano em concentrações a partir de 200 mg.L^{-1} a 35°C com pH 7,6. Já Rodríguez et al., (2011) relataram que níveis de até 375 mg.L^{-1} de amônia livre não afetaram a eficiência do processo de digestão.

A aclimação dos microrganismos na presença da amônia livre é um fator chave para a eficiência do processo. Isto pode ocorrer devido à adaptação das espécies de arqueas metanogênicas presentes no reator ou através da seleção da população, sobressaindo-se espécies mais adaptadas às condições do reator (Silva et., 2014).

Referências

DE PRÁ, M. C. et al. Simultaneous removal of TOC and TSS in swine wastewater using the partial nitrification process. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 88, n. 9, 2013. DOI: 10.1002/jctb.3803.

DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from Waste and Renewable Resources: an introduction**. Wiley-VCH, 2011.

KUNZ, AIRTON; MUKHTAR, SAQIB. Hydrophobic membrane technology for ammonia extraction from wastewaters. **Engenharia Agrícola**, v. 36, p. 377-386, 2016.

MÉZES, L.; BIRÓ,G.; Sulyok, E.; PETIS, M.; BORBÉLY, J.; TAMÁS, J. Novel Approach on the basis of FOS/TAC method. **Analele Universității din Oradea, Fascicula: Protectia Mediului**, v. 17, ano 16, p. 713-718, 2011B.

GARCIA, M. L.; ANGENENT, L. T. Interaction between temperature and ammonia in mesophilic digesters for animal waste treatment. **Water research**, v. 43, n. 9, p. 2373-82, maio 2009.

RODRÍGUEZ, D.C.; BELMONTE, M.; PEÑUELA, G.; CAMPOS, J.L.; VIDAL, G. Behaviour of molecular weight distribution for the liquid fraction of pig slurry treated by anaerobic digestion. **Environmental Technology**, v. 32, n. 3-4, p. 419-425, 2011.

SILVA, M. L. B. da; CANTAO, M. E.; MEZZARI, M. P.; MA, J.; NOSSA, C. W. Assessment of Bacterial and Archaeal Community Structure in Swine Wastewater Treatment Processes. **Microbial Ecology**, Netherlands, v. 86, p. 106-112, 2014.

WELLINGER, A., MURPHY, J., BAXTER, D. (Ed.) **The biogas handbook: science, production and applications**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2013. 476 p.

WIEGANT, W. M.; ZEEMAN, G. The mechanism of ammonia inhibition in the thermophilic digestion of livestock wastes. **Agricultural Wastes**, v. 16, p. 243-253, 1986.

Literatura recomendada

ANTHONISEN, A. C. et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 48, p. 835-852, 1976.

CHERNICHARO, C. A. L. **Anaerobic Reactors**. IWA Publishing, 2007.