

ALINE MARA BARBOSA PIRES

EFEITO DE AGENTES QUÍMICOS NO TRATAMENTO
ANAERÓBIO DE EFLUENTES

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, para obtenção do título de
“*Magister Scientiae*”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

P813e
2005

Pires, Aline Mara Barbosa, 1979-

Efeito de agentes químicos no tratamento anaeróbio de efluentes / Aline Mara Barbosa Pires. – Viçosa: UFV, 2005.

xvi, 87f : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Frederico José Vieira Passos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referência bibliográfica: f. 72-79

1. Química industrial. 2. Águas residuais - Purificação - Tratamento biológico. 3. Resíduos industriais - Purificação. 4. Digestão anaeróbica. 5. Alimentos - Indústria I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD. 22.ed. 628.362

ALINE MARA BARBOSA PIRES

**EFEITO DE AGENTES QUÍMICOS NO TRATAMENTO
ANAERÓBIO DE EFLUENTES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de “*Magister Scientiae*”.

APROVADA: 05 de maio de 2005.

Prof. Nélcio José de Andrade
(Conselheiro)

Prof. Ismael Maciel de Mancilha
(Conselheiro)

Prof. Hilário Cuquetto Mantovani

Prof^a. Ann Honor Mounteer

Prof. Frederico José Vieira Passos
(Orientador)

A Deus.

Aos meus pais, Eni e José Miguel.

Ao meu irmão, Miguel.

Aos meus avós, em especial à minha saudosa Vó Ção.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Pif Paf Alimentos S/A, por ter permitido a coleta do material utilizado neste trabalho.

Ao professor Frederico José Vieira Passos, pela confiança e pela orientação na execução deste trabalho.

Ao professor Ismael Maciel de Mancilha, pelo apoio e pelos conselhos.

Ao professor Nélcio José de Andrade, pelo incentivo e pelas sugestões.

Ao professor Hilário Cuquetto Mantovani, pelos ensinamentos e pelas sugestões.

À professora Ann Honor Mounteer, pelas sugestões e comentários construtivos.

Ao professor Cláudio Mudado Silva e funcionários do Laboratório de Celulose e Papel, pela colaboração.

A Luís Eduardo do Nascimento e demais funcionários da Estação de Tratamento de Água (ETA) da Universidade Federal de Viçosa, pela colaboração.

À professora Mônica Ribeiro Pirozi, atual chefe do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da Universidade Federal de Viçosa, pela colaboração.

À professora Nilda de Fátima Ferreira Soares e aos amigos do Laboratório de Embalagens, especialmente à Edimar e Nathália, pela colaboração.

À minha mãe, pelo carinho, pelo incentivo, pela presença constante e pela contribuição indispensável na concretização deste sonho.

À minha estagiária e eternamente amiga Tatiana Gravena, pela dedicação incondicional e pela contribuição indispensável para realização deste trabalho.

À Vanessa e Alcinéia, por me apresentarem esse instigante mundo da microbiologia do tratamento anaeróbio de efluentes, pelo incentivo, pelas valiosas sugestões e pelos ensinamentos. A todos estagiários que participaram deste trabalho, Oswaldo, Liliane Soares e Liliane Oliveira, pelo auxílio no desenvolvimento deste trabalho. Aos colegas do Laboratório de Biotecnologia e Processos Fermentativos, Fabiano e Danilo, pela ajuda e paciência. Às amigas Deise e Vânia, pela inesquecível convivência, pelo carinho, pelo incentivo e pela paciência.

Às amigas Elaine, Nathália, Daniela Arquete, Janaína e Celine, por compartilharem comigo alguns dos momentos mais importantes da minha vida. Obrigada pelo carinho, pela solidariedade e por me mostrar que em qualquer fase de nossas vidas é possível encontrar amizades sinceras.

Aos amigos da turma de Fisiologia de Microrganismos Prática (MBI 611), Marcelo, Bruno, Nathália e Janaína, pela amizade, por tantas horas de estudos e por tantas outras de risos.

Às minhas eternas amigas da graduação Paula Santiago, Kelly, Paula Nardelli, Paula Souza e Janayna, por estarem sempre presente, mesmo à distância.

Às minhas “irmãs” Luciana e Érica, por me demonstrarem há 13 anos o valor desmedido da amizade.

Ao meu afilhado Yago, fonte inesgotável de alegria em minha vida.

À toda minha família, em especial aos meus pais Eni e José Miguel, ao meu irmão Miguel, aos meus tios Eva, Dorita, Antônio e Conceição, pelo auxílio, pelo amor e pelo incentivo em todas as etapas de minha vida.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pelos conhecimentos adquiridos.

Aos funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos, em especial a Vânia, Geralda, Sr. Luís, Sr. Manuel, Sr. José, Pio, Tiago, Divino, Ademir e D. Lígia, pela ajuda, pelo incentivo e pela companhia.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o êxito deste trabalho.

Por último, mas sempre em primeiro lugar, graças a Deus.

BIOGRAFIA

Aline Mara Barbosa Pires, filha de José Miguel Pires e de Eni da Consolação Barbosa Pires, nasceu em Ponte Nova, Estado de Minas Gerais, em 13 de setembro de 1979.

Em março de 2003, graduou-se em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Em março de 2003, iniciou o curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa, na área de Biotecnologia e Fermentações Industriais, submetendo-se à defesa da dissertação em 05 de maio de 2005.

CONTEÚDO

LISTA DE QUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Geração de resíduos em indústrias de alimentos.....	3
2.2. Tratamento de efluentes de indústrias de alimentos.....	5
2.3. Tratamento anaeróbio de efluentes.....	6
2.4. Microbiologia da digestão anaeróbia.....	7
2.5. Fatores que afetam a microbiologia da digestão anaeróbia.....	11
2.6. Agentes químicos empregados nos procedimentos de higienização.....	17
2.6.1. Detergentes.....	17
2.6.2. Sanitizantes.....	23
2.6.3. Detergentes sanitizantes.....	33
2.7. Concentrações residuais nos efluentes.....	33
2.8. Efeito dos agentes químicos na digestão anaeróbia.....	35
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.1. Formulação do meio sintético.....	37
3.2. Preparo do inóculo.....	38

3.3. Procedimento experimental.....	39
3.3.1. Adaptação do inóculo.....	39
3.3.2. Determinação da concentração inicial de células.....	40
3.3.3. Estudo do efeito de agentes químicos na eficiência de remoção de DQO.....	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
4.1. Caracterização do meio sintético.....	46
4.2. Caracterização do inóculo.....	47
4.3. Procedimento experimental.....	48
4.3.1. Adaptação do inóculo.....	48
4.3.2. Determinação da concentração inicial de células.....	49
4.3.3. Estudo do efeito de agentes químicos na eficiência de remoção de DQO.....	51
4.3.3.1. Avaliação do efeito individual de agentes detergentes na eficiência de remoção de DQO.....	53
4.3.3.2. Avaliação do efeito combinado de agentes detergentes na eficiência de remoção de DQO.....	63
4.3.3.3. Avaliação do efeito individual de sanitizantes químicos na eficiência de remoção de DQO.....	64
4.3.3.4. Avaliação do efeito combinado de detergentes e sanitizantes na eficiência de remoção de DQO.....	67
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....	69
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
7. APÊNDICE.....	80

LISTA DE QUADROS

1. Padrões de lançamento de efluentes estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005.....	4
2. Vantagens e desvantagens dos processos anaeróbios de tratamento de águas residuárias.....	6
3. Comparação entre eubactérias, arqueobactérias e eucariotos.....	9
4. Principais propriedades de importantes componentes de formulações de detergentes.....	20
5. Médias de reduções decimais na população de psicrotrófico acidificante LC-32 submetida à ação de sanitizantes químicos.....	25
6. Comparação dos desinfetantes comumente utilizados no processo de sanificação.....	26
7. Concentrações aproximadas de agentes de limpeza e sanitizantes normalmente utilizadas nos procedimentos de higienização de indústrias de alimentos.....	34
8. Componentes do meio sintético.....	38
9. Volumes de suspensão de células e meio sintético adicionados ao reator para obtenção da relação alimento/ microrganismo (A/M) correspondente.....	40
10. Agentes químicos e concentrações avaliadas no presente estudo.....	43
11. Concentrações, no interior do reator, avaliadas no estudo das combinações de detergentes e sanitizantes.....	43
12. Características das soluções originais dos diferentes agentes químicos avaliados neste estudo.....	44
13. Características do meio sintético.....	47
14. Características do lodo anaeróbio antes e após a etapa de lavagem das células.....	47

LISTA DE FIGURAS

1. Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia.....	7
2. Fórmula estrutural de alguns agentes tensoativos: (a) alquil benzeno sulfonato de sódio - aniônico, (b) lauril sulfonato de sódio - aniônico; (c) nonil fenol etoxilato - não-iônico; (d) dodecil diaminoetil glicina - anfótero.....	21
3. Fórmula estrutural de alguns agentes complexantes inorgânicos: (a) hexametáfosfato de sódio, (b) tripolifosfato de sódio, (c) pirofosfato tetrassódico; e orgânicos: (d) ácido etilenodiaminotetraacetato de sódio, (e) gluconato de sódio.....	23
4. Estruturas químicas de compostos clorados orgânicos: (a) cloramina T; (b) dicloroisocianurato de sódio; (c) diclorodimetilhidantoína.....	27
5. Estrutura química de compostos quaternários: (a) brometo de cetiltrimetil amônio; (b) cloreto de laurildimetilbenzil amônio.....	30
6. Fórmula estrutural da clorhexidina (1,6-di (4-clorofenildiguanida) hexano).....	31
7. Representação esquemática (a) e fotográfica (b) dos fermentadores empregados.....	41
8. Variação da eficiência de remoção de DQO. A - Carga biológica de 0,2 kgDQO.kgbiomassa ⁻¹ .d ⁻¹ : (○) Efluente natural, (●) Meio sintético; B - Carga biológica de 0,4 kgDQO. kgbiomassa ⁻¹ .d ⁻¹ : (○) Efluente natural, (●) Meio sintético.....	46
9. Variação da DQO (a) e pH (b) do sistema na fase de adaptação do lodo anaeróbio ao meio sintético.....	48
10. Variação de DQO (○) e pH (Δ) para as diferentes relações A/M testadas: (a) 0,50; (b) 1,0; (c) 1,5; (d) 2,0; (e) 3,0 e (f) 4,0g DQO.g STV ⁻¹	49

11. Eficiências de remoção de DQO, após 120 horas de operação do sistema, para os diferentes agentes químicos e combinações avaliadas.....	52
12. Variação da DQO (a) e pH (b) no reator controle.....	53
13. Variação de DQO (○) e pH (Δ) no reator controle (a) e no sistema adicionado de 15 mg.L ⁻¹ Tween 80 (b).....	54
14. Fotomicrografias (4x) dos grânulos presentes na mistura de reação contendo 15 mg.L ⁻¹ de Tween 80 em diferentes tempos de operação: (a) 0 hora; (b) 24 horas; (c) 120 horas; fotografias utilizando objetiva 10x mostram melhor a estrutura mais agregada nos tempos (d) 75 horas e (e) 120 horas.....	55
15. Efeito de hidróxido de sódio na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) Controle; (b) 0,02%; (c) 0,1% e (d) 0,5 % NaOH.....	56
16. Fotomicrografias (4x) dos grânulos presentes na mistura de reação inicial do controle (a) e na mistura contendo 0,5% de hidróxido de sódio em diferentes tempos de operação: (b) 6 horas; (c) 48 horas; (d) 96 horas e (e) 120 horas; (f) grânulo deteriorado observado na mistura contendo 0,5% NaOH após 120 horas de operação, utilizando objetiva 10x.....	57
17. Efeito de ácido nítrico na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) Controle; (b) 0,01%; (c) 0,05% e (d) 0,25% HNO ₃	59
18. Efeito de dodecil sulfato de sódio na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) Controle; (b) 30 mg.L ⁻¹ ; (c) 150 mg.L ⁻¹ e (d) 750 mg.L ⁻¹	61
19. Fotomicrografias (4x) dos grânulos presentes na mistura de reação contendo 750 mg.L ⁻¹ de dodecil sulfato de sódio em diferentes tempos de operação: (a) 0 hora; (b) 24 horas; (c) 120 horas.....	62
20. Efeito de detergente básico na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) Controle; (b) 0,02%; (c) 0,10% e (d) 0,50%.....	63
21. Efeito de ácido peracético na variação de DQO (○) e pH (Δ) no reator controle (a) e no reator contendo 60 mg.L ⁻¹ de ácido peracético (b).....	66
22. Fotomicrografias (4x) dos grânulos presentes na mistura de reação inicial do controle (a) e na mistura contendo 60 mg.L ⁻¹ de ácido peracético em diferentes tempos de operação: (b) 6 horas; (c) 72 horas; (d) 120 horas.....	67
23. Variação de DQO (○) e pH (Δ) no reator controle (a) e no sistema avaliando o efeito combinado de 0,10% detergente ácido e 10 mg.L ⁻¹ CRT (b).....	68

1A. Efeito de hexametáfosfato de sódio na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 60 mg.L ⁻¹ (b) 300 mg.L ⁻¹ ; (c) 1500 mg.L ⁻¹	81
2A. Efeito de EDTA na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 10 mg.L ⁻¹ ; (b) 50 mg.L ⁻¹ ; (c) 250 mg.L ⁻¹	82
3A. Efeito de Tween 80 na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 0,6 mg.L ⁻¹ ; (b) 3 mg.L ⁻¹	82
4A. Efeito de detergente ácido na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 0,02%; (b) 0,1%; (c) 0,5%.....	83
5A. Efeito de ácido peracético na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 2,4 mg.L ⁻¹ ; (b) 12 mg.L ⁻¹	83
6A. Efeito de hipoclorito de sódio na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 2 mg.L ⁻¹ CRT; (b) 10 mg.L ⁻¹ CRT; (c) 50 mg.L ⁻¹ CRT.....	84
7A. Efeito da combinação detergente ácido (Da) e hipoclorito de sódio na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 0,02% Da e 2 mg.L ⁻¹ CRT; (b) 0,5% Da e 250 mg.L ⁻¹ CRT.....	84
8A. Efeito da combinação detergente básico (Db) e hipoclorito de sódio na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 0,02% Db e 2 mg.L ⁻¹ CRT; (b) 0,1% Db e 10 mg.L ⁻¹ CRT; (c) 0,5% Db e 50 mg.L ⁻¹ CRT.....	85
9A. Efeito da combinação detergente ácido (Da) e ácido peracético (APA) na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio: (a) 0,02% Da e 2,4 mg.L ⁻¹ APA; (b) 0,1% Da e 12 mg.L ⁻¹ APA; (c) 0,5% Da e 60 mg.L ⁻¹ APA.....	86
10A. Efeito da combinação detergente básico (Db) e ácido peracético (APA) na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 0,02% Db e 2,4 mg.L ⁻¹ APA; (b) 0,1% Db e 12 mg.L ⁻¹ APA; (c) 0,5% Db e 60 mg.L ⁻¹ APA.....	87

RESUMO

PIRES, Aline Mara Barbosa, M.S., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2005.

Efeito de agentes químicos no tratamento anaeróbio de efluentes. Orientador: Frederico José Vieira Passos. Conselheiros: Ismael Maciel de Mancilha e Nélcio José de Andrade.

A digestão anaeróbia representa uma alternativa viável para tratamento de efluentes de alta carga orgânica, como os gerados pelas indústrias de alimentos. Contudo, sua aplicação ainda é limitada devido ao conceito errôneo de que processos anaeróbios não são capazes de tolerar a toxicidade de produtos químicos que possam estar presentes em efluentes industriais. No caso da indústria de alimentos, a maioria das substâncias tóxicas origina-se dos sistemas de limpeza e sanificação como detergentes e sanificantes. Neste estudo avaliou-se o efeito de agentes químicos na eficiência de remoção de Demanda Química de Oxigênio (DQO), utilizando-se reatores anaeróbios em batelada tratando um meio sintético. Representantes de cada classe de agentes detergentes como alcalinos, ácidos, tensoativos e complexantes, foram avaliados isoladamente e na forma combinada, por meio de duas formulações: detergente básico e detergente ácido. Além disso, foram avaliados dois sanificantes químicos e combinações desses sanificantes com as formulações de detergente. As concentrações testadas foram definidas com base nas concentrações recomendadas em procedimentos de higienização e em fatores de diluição resultantes dos procedimentos de enxágüe. O acompanhamento da performance dos reatores foi realizado avaliando-se o pH e a DQO solúvel. Os sistemas contendo EDTA, hexametáfosfato de sódio e hipoclorito de sódio não apresentaram efeito inibitório em nenhuma das concentrações

avaliadas, enquanto 60 mg.L⁻¹ de ácido peracético reduziu a eficiência do processo. Os surfactantes apresentaram efeitos diferenciados: a digestão anaeróbia foi inibida por concentrações acima de 150 mg.L⁻¹ de dodecil sulfato de sódio (surfactante aniônico), enquanto Tween 80 (surfactante não iônico) estimulou o processo em concentrações de 15 mg.L⁻¹. Os efeitos inibitórios mais relevantes foram atribuídos ao agente alcalino (hidróxido de sódio) e ao agente ácido (ácido nítrico) devido à grande influência do pH na performance do sistema. Não foi observado sinergismo entre os componentes das formulações de detergente, predominando o comportamento do agente principal de cada formulação, em todas as concentrações testadas. A avaliação das associações entre detergentes e sanificantes confirma a relevância do efeito do pH sobre os microrganismos anaeróbios e sobre a atividade antimicrobiana dos sanificantes químicos avaliados.

ABSTRACT

PIRES, Aline Mara Barbosa, M.S., Universidade Federal de Viçosa, May 2005.
Effect of chemical agents on anaerobic wastewater treatment. Adviser:
Frederico José Vieira Passos. Committee members: Ismael Maciel de Mancilha and
Nélio José de Andrade.

Anaerobic digestion represents a feasible option for the treatment of high strength organic effluents such as food-processing industries wastewater. However, its application is still limited due to a common misconception that anaerobic process cannot tolerate toxicity of chemical products that may be contained in industrial wastewaters. In the food industry, most toxic substances come from cleaning and sanitizing systems like detergents and disinfectants. This study evaluated the effect of chemical agents on efficiency of chemical oxygen demand (COD) removal in batch anaerobic reactors treating a synthetic media. Groups of each detergent class as alkaline, acid, surfactants and chelating agents, were evaluated separately and mixed using two formulations: alkaline detergent and acid detergent. Moreover, two chemical sanitizers and mixtures of these sanitizers with the detergent formulations were evaluated. The evaluated concentrations were defined based on concentration recommended in sanitation procedures and dilution factors by rinse procedures. The performance of the reactors was evaluated by pH and soluble COD. Systems containing EDTA, sodium hexametaphosphate and sodium hypochlorite did not manifest inhibition at any concentration evaluated while peracetic acid at 60 mg.L^{-1} reduced the performance of the process. Surfactants showed different effects: anaerobic digestion was inhibited by sodium dodecylsulfate (anionic surfactant) at concentrations above 150 mg.L^{-1} while

Tween 80 (non-ionic surfactant) stimulated the process at 15 mg.L⁻¹. The greatest inhibitions were attributed to alkaline agent (sodium hydroxide) and acid agent (nitric acid) due to intense influence of pH on system performance. There was no synergism among components of detergent formulations with the behavior of the main agent of each formulation predominating, at all evaluated concentrations. The assessment of detergents and sanitizer mixtures confirms magnitude of effect of pH on anaerobic microorganisms and antimicrobial activities of evaluated chemical sanitizers.

1 INTRODUÇÃO

A questão ambiental destaca-se como uma das maiores preocupações atuais em todo o mundo, visto que o controle da poluição está diretamente relacionado com a proteção da saúde, garantia do meio ambiente ecologicamente equilibrado e a melhoria da qualidade de vida.

Como exigido para todas as fontes poluidoras, os efluentes de indústrias de alimentos só podem ser lançados nos corpos receptores após tratamento adequado. Devido à sua alta biodegradabilidade são considerados candidatos ideais ao tratamento biológico, que tem se tornado uma alternativa cada vez mais atrativa considerando-se a crescente busca por uma sociedade sustentável.

Dentre os processos biológicos empregados no tratamento de efluentes destacam-se os sistemas anaeróbios que vem ganhando destaque em nível mundial e principalmente em países tropicais, como o Brasil, representando uma alternativa atrativa para tratamento de vários tipos de efluentes, principalmente os que apresentam carga orgânica acima de 1000 mg DQO.L⁻¹, como os gerados pelas indústrias de alimentos. Além disso, os sistemas anaeróbios representam uma fonte alternativa de energia, devido à produção de metano, enquanto auxiliam no controle da poluição por meio da diminuição da carga de matéria orgânica presente no efluente.

Os sistemas anaeróbios de tratamento de efluentes envolvem a conversão dos compostos orgânicos complexos presentes no efluente em biogás, constituído de metano e dióxido de carbono, por meio de uma seqüência de transformações microbianas realizadas por um consórcio de microrganismos. Por se basear em catálise microbiana, diversos fatores ambientais afetam o processo, dentre eles temperatura, pH, composição química do efluente, presença de nutrientes, competição das arqueobactérias metanogênicas com as bactérias redutoras de sulfato e presença de substâncias que podem ser tóxicas à microbiota presente nas unidades de tratamento. No caso da indústria de alimentos, a maioria dessas substâncias origina-se dos procedimentos de limpeza e sanitização como detergentes e sanitizantes.

A toxicidade tem sido considerada uma das principais razões da não utilização mais generalizada da digestão anaeróbia e do baixo aproveitamento de suas diversas vantagens. Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de agentes químicos empregados nos procedimentos de higienização de indústrias de alimentos, na eficiência global do processo de digestão anaeróbia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Geração de resíduos em indústrias de alimentos

A descarga dos efluentes gerados pela agricultura e indústrias de alimentos constitui um dos principais problemas ambientais em todo o mundo. A presente tendência de globalização tem levado à construção de fábricas cada vez maiores, implicando na descarga de grandes volumes de efluente no ambiente (LÓPEZ-FIUZA et al., 2002).

Os resíduos de indústrias de alimentos normalmente são biodegradáveis e muito variáveis em sua composição, podendo incluir sólidos e líquidos, alimentos ricos em proteína ou ricos em carboidratos, alimentos gordurosos e resíduos químicos provenientes tanto do processamento como dos procedimentos de limpeza. No entanto, a quantidade de efluente gerada e seu alto teor de matéria orgânica podem desencadear sérios problemas ambientais, caso não receba algum tipo de tratamento antes da disposição nos corpos receptores. Os padrões para efluentes exigidos pelas autoridades locais ou regionais variam muito e dependem do local de descarga do efluente, do grau de diluição no corpo receptor, dentre outros fatores (HAYES, 1995).

A Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005, dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Segundo o artigo 34 desta Resolução, os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos

corpos de água desde que obedecem aos padrões apresentados no QUADRO 1 e às seguintes condições:

- pH entre 5 a 9;
 - temperatura inferior a 40 °C, sendo que a variação de temperatura do corpo receptor não deverá exceder a 3 °C na zona de mistura;
 - materiais sedimentáveis até 1 mL.L⁻¹ em teste de 1 hora em cone Imhoff.
- Para o lançamento em lagos e lagoas, cuja velocidade de circulação seja praticamente nula, os materiais sedimentáveis deverão estar virtualmente ausentes;
- regime de lançamento com vazão máxima de até 1,5 vezes a vazão média do período de atividade diária do agente poluidor, exceto nos casos permitidos pela autoridade competente;
 - óleos e graxas: 1) óleos minerais até 20 mg.L⁻¹; 2) óleos vegetais e gorduras animais até 50 mg.L⁻¹; e
 - ausência de materiais flutuantes.

QUADRO 1 – Padrões de lançamento de efluentes estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005.

Padrões			
Parâmetros Inorgânicos	Valor Máximo	Parâmetros Orgânicos	Valor Máximo
Arsênio total	0,5 mg.L ⁻¹ As	Clorofórmio	1,0 mg.L ⁻¹
Bário total	5,0 mg.L ⁻¹ Ba	Dicloroeteno	1,0 mg.L ⁻¹
Boro total	5,0 mg.L ⁻¹ B	Fenóis totais	0,5 mg.L ⁻¹ C6H5OH
Cádmio total	0,2 mg.L ⁻¹ Cd	Tetracloroeto de carbono	0,5 mg.L ⁻¹
Chumbo total	0,5 mg.L ⁻¹ Pb	Tricloroeteno	0,5 mg.L ⁻¹
Cianeto total	0,2 mg.L ⁻¹ CN		
Cobre dissolvido	1,0 mg.L ⁻¹ Cu		
Cromo total	0,5 mg.L ⁻¹ Cr		
Estanho total	4,0 mg.L ⁻¹ Sn		
Ferro dissolvido	15,0 mg.L ⁻¹ Fe		
Fluoreto total	10,0 mg.L ⁻¹ F		
Manganês dissolvido	1,0 mg.L ⁻¹ Mn		
Merúrio total	0,01 mg.L ⁻¹ Hg		
Níquel total	2,0 mg.L ⁻¹ Ni		
Nitrogênio amoniacal total	20,0 mg.L ⁻¹ N		
Prata total	0,1 mg.L ⁻¹ Ag		
Selênio total	0,30 mg.L ⁻¹ Se		
Sulfeto	1,0 mg.L ⁻¹ S		
Zinco total	5,0 mg.L ⁻¹ Zn		

2.2. Tratamento de efluentes de indústrias de alimentos

A sociedade pós-industrial vem pressionando a indústria e os órgãos governamentais a implementarem sistemas de gerenciamento ambiental rigidamente estruturados. Para todos os resíduos, particularmente os líquidos e gasosos, as exigências crescentes estão relacionadas à reutilização máxima e dissipação mínima para a atmosfera (VERSTRAETE, 1999).

A busca por uma sociedade sustentável exige uma redução da dependência de combustíveis fósseis e diminuição da poluição gerada. O tratamento biológico de efluentes consegue atingir essas duas metas simultaneamente, uma vez que muitos bioprocessos podem fornecer bioenergia ou compostos químicos valiosos enquanto alcançam o objetivo de controle da poluição. Dentre esses bioprocessos destaca-se a digestão anaeróbia metanogênica, onde o metano produzido pode ser utilizado como combustível ou convertido a metanol para utilização na produção de biodiesel (ANGENENT et al., 2004).

Efluentes agroindustriais como os provenientes de indústrias de alimentos, bebidas ou mesmo criação de animais são considerados candidatos ideais ao tratamento biológico devido aos altos níveis de matéria orgânica facilmente biodegradável (ANGENENT et al., 2004). Dentre as vantagens dos processos microbiológicos estão incluídos o baixo custo da catálise microbiana, sua capacidade de adaptação a condições variadas ou homeostase, e o fato da biotecnologia ambiental ser classificada como “verde”, ou ecologicamente correta (GROMMEN e VERSTRAETE, 2002).

O tratamento biológico, que pode ser aeróbio ou anaeróbio, implica na conversão da matéria orgânica em dióxido de carbono e água, no caso da digestão aeróbia, ou em metano e dióxido de carbono na digestão anaeróbia. Em adição a esses produtos finais, sólidos na forma de material celular também são produzidos (CHERNICHARO, 1997).

2.3. Tratamento anaeróbio de efluentes

Frente ao crescente interesse por assuntos ambientais e relacionados à energia, a tecnologia do tratamento anaeróbio de efluentes representa um método atrativo que está sendo amplamente aceito e utilizado em todo o mundo. Atualmente, a tecnologia anaeróbia é reconhecida como um método de pré-tratamento útil e bem estabelecido, para efluentes orgânicos e resíduos sólidos que apresentam média e alta carga orgânica (acima de 1000 mg DQO.L⁻¹), o que inclui efluentes de indústrias de alimentos (SEKIGUCHI, KAMAGATA e HARADA, 2001).

O emprego da tecnologia anaeróbia tem crescido na América Latina, principalmente no Brasil, tanto em número quanto em volume de reatores, constituindo uma importante contribuição ao desenvolvimento desta tecnologia, o que se deve principalmente às condições climáticas favoráveis (BORZACCONI et al., 1995).

As principais vantagens e desvantagens dos processos anaeróbios de tratamento de águas residuárias são apresentadas no QUADRO 2.

QUADRO 2 – Vantagens e desvantagens dos processos anaeróbios de tratamento de águas residuárias.

Vantagens	Desvantagens
• baixa produção de sólidos • baixo consumo de nutrientes como nitrogênio e fósforo • baixo consumo de energia • produção de gás metano • tolerância a elevadas cargas orgânicas e volumétricas • baixa demanda de área • baixos custos de implantação • aplicabilidade em pequena e grande escala • possibilidade de biodegradação de compostos xenobióticos e recalcitrantes	• a partida do processo pode ser lenta • necessidade de pós-tratamento • remoção insatisfatória de nitrogênio, fósforo e organismos patogênicos • possibilidade de geração de maus odores • possibilidade de geração de efluente com aspecto desagradável • inibição das bactérias anaeróbias por alguns compostos • a bioquímica e a microbiologia da digestão anaeróbia ainda são pouco conhecidas

Fonte: BITTON, 1994; CHERNICHARO, 1997.

2.4. Microbiologia da digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia, anteriormente mais utilizada para estabilização de lodos, recentemente tem sido empregada no tratamento de efluentes industriais, o que só se tornou possível devido à melhor compreensão da microbiologia do processo e ao aperfeiçoamento das configurações de reatores (BITTON, 1994).

A transformação dos compostos orgânicos complexos em metano envolve uma seqüência de transformações microbianas realizadas por um consórcio de microrganismos composto principalmente de bactérias, embora alguns fungos e protozoários possam ser encontrados em digestores anaeróbios. Bactérias anaeróbias facultativas e estritas (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*) estão envolvidas no processo, havendo interações de sinergismo entre os diversos grupos de microrganismos incluídos (BITTON, 1994).

O processo de digestão anaeróbia (FIG. 1) pode ser subdividido em quatro fases principais: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (BITTON, 1994; VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994; CHERNICHARO, 1997).

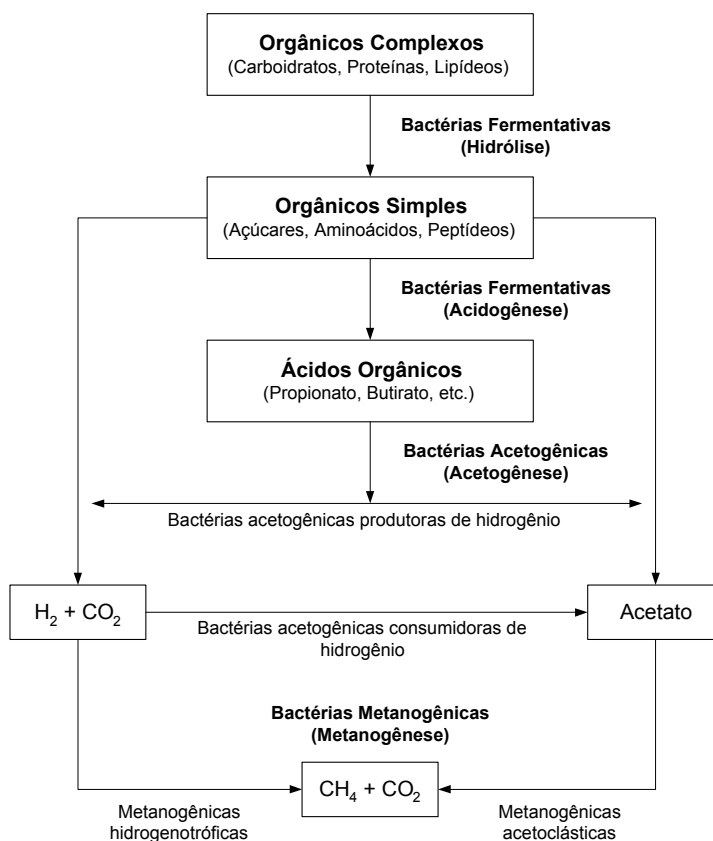


FIGURA 1 – Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia (CHERNICHARO, 1997).

Hidrólise

Nesta primeira etapa, um consórcio de bactérias anaeróbias hidrolisa moléculas orgânicas complexas como proteínas, carboidratos e lipídeos, em monômeros como aminoácidos, glicose, ácidos orgânicos e glicerol que são compostos de menor peso molecular capazes de serem assimilados pelas bactérias fermentativas. Normalmente, a fase hidrolítica é catalisada por enzimas extracelulares excretadas pelas bactérias fermentativas como proteases, celulasas e lipases (CHERNICHARO, 1997).

A taxa de hidrólise é lenta e pode ser limitante para todo o processo de digestão anaeróbia (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994). Diversos fatores podem afetar o grau e a taxa em que o substrato é hidrolisado, entre eles a temperatura operacional do reator, tempo de residência do substrato no reator, composição do substrato, tamanho das partículas, pH do meio, concentração de $N-NH_4^+$ e concentração de produtos da hidrólise como ácidos orgânicos (LETTINGA, HULSHOF e ZEEMAN, 1996).

Acidogênese

Os compostos dissolvidos gerados no processo de hidrólise como por exemplo aminoácidos, açúcares e ácidos orgânicos, são absorvidos pelas células das bactérias fermentativas e, após a acidogênese, excretados na forma de substâncias orgânicas simples como ácidos orgânicos (ácido fórmico, acético, propiônico, butírico, láctico, succínico), álcoois (etanol, glicerol, propanol, butanol), cetonas (acetona) e compostos minerais, como CO_2 , H_2 , NH_3 , H_2S , dentre outros. A formação dos produtos varia com o tipo de bactéria presente no reator e com condições do meio como temperatura, pH e potencial de oxi-redução, sendo o acetato o principal produto da fermentação de carboidratos (BITTON, 1994).

A fermentação acidogênica é realizada por um grupo diversificado de bactérias, a maioria anaeróbia estrita. Algumas espécies, como as bactérias entéricas, são anaeróbias facultativas e podem metabolizar o material orgânico pela via oxidativa, sendo de extrema importância nos sistemas de tratamento de resíduos, uma vez que o oxigênio dissolvido eventualmente presente poderia se tornar uma substância tóxica aos anaeróbios estritos, caso não fosse removido (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

Os valores ótimos de temperatura e pH específicos para esta etapa são de 35 °C e 4,0 a 6,0, respectivamente.

Acetogênese

Bactérias acetogênicas, como *Syntrobacter wolinii* e *Syntrophomonas wolfei*, convertem os produtos da acidogênese em acetato, CO₂ e H₂, que são substratos para a produção de metano. Esse grupo de microrganismos requer baixa tensão de hidrogênio para conversão de ácidos orgânicos. Sob pressão parcial de hidrogênio relativamente alta, a formação de acetato é reduzida e o substrato é convertido a ácido propiônico, ácido butírico e etanol em maior proporção do que em metano. Existe, portanto, uma relação simbiótica entre bactérias acetogênicas e arqueobactérias metanogênicas, sendo as metanogênicas auxiliares na manutenção da baixa tensão de hidrogênio requerida pelas bactérias acetogênicas (BITTON, 1994).

Metanogênese

A etapa final do processo global de degradação anaeróbia de compostos orgânicos em metano e dióxido de carbono é efetuada por microrganismos metanogênicos, anaeróbios estritos, que utilizam um número limitado de substratos compreendendo ácido acético, hidrogênio/dióxido de carbono, ácido fórmico, metanol, metilaminas e monóxido de carbono (CHERNICHARO, 1997).

Do ponto de vista taxonômico, as metanogênicas pertencem ao domínio *Archaea*, sendo os microrganismos pertencentes a este domínio denominados arqueobactérias. As principais diferenças e similaridades entre arqueobactérias, eubactérias e eucariotos são apresentadas no QUADRO 3 (WHITE, 2000).

QUADRO 3 – Comparação entre eubactérias, arqueobactérias e eucariotos.

Característica	Bacteria	Archaea	Eukarya
Peptideoglicano	Sim	Não	Não
Lípídeos	Ligações éster	Ligações éter	Ligações éster
Ribossomos	70S	70S	80S
RNA polimerase	1 (4 subunidades)	Várias (8-12 subunidades)	3 (12-14 subunidades)
Sensibilidade do ribossomo à cloranfenicol, estreptomicina	Sim	Não	Não

Fonte: WHITE, 2000.

Em função de sua afinidade por substrato e magnitude de produção de metano, as arqueobactérias metanogênicas são divididas em dois grupos principais: metanogênicas acetoclásticas, que formam metano a partir de ácido acético ou metanol, e metanogênicas hidrogenotróficas, que produzem metano a partir de hidrogênio e dióxido de carbono.

Metanogênicas acetoclásticas

Embora este grupo envolva poucas espécies, normalmente são os microrganismos predominantes na digestão anaeróbia. São responsáveis por cerca de 60 a 70% de toda a produção de metano, a partir do grupo metil do ácido acético. Pertencem a dois gêneros principais: *Methanosarcina*, que possui espécies capazes de utilizar também o hidrogênio e as metilaminas, e *Methanosaeta* (*Methanothrix*), que utiliza exclusivamente o acetato (BITTON, 1994; CHERNICHARO, 1997).

Metanogênicas hidrogenotróficas

Ao contrário das acetoclásticas, praticamente todas as espécies conhecidas de arqueobactérias metanogênicas são capazes de produzir metano a partir de hidrogênio e dióxido de carbono. Os gêneros mais frequentemente isolados em reatores anaeróbios são: *Methanobacterium*, *Methanospirillum* e *Methanobrevibacter*.

Tanto as metanogênicas acetoclásticas quanto as hidrogenotróficas são muito importantes na manutenção do curso da digestão anaeróbia, visto que são responsáveis pela função essencial de consumir o hidrogênio produzido nas fases anteriores. O consumo de hidrogênio proporciona o abaixamento da pressão parcial de hidrogênio no meio, tornando possível as reações de produção das acidogênicas e acetogênicas.

As arqueobactérias metanogênicas são os organismos chave no processo de digestão anaeróbia e, devido à sua baixa taxa de crescimento, alta especificidade para substrato e relativamente alta susceptibilidade ao stress ambiental, frequentemente a metanogênese é considerada a fase mais crítica do processo. Além disso, uma eficiência satisfatória do processo de tratamento de efluente só é alcançada após a conclusão dessa etapa (KOSTER e LETTINGA, 1984).

A característica metabólica mais relevante do processo de digestão anaeróbia é que as conversões fermentativas de matéria orgânica a ácidos orgânicos são muito mais rápidas que os estágios posteriores de conversão de ácidos a acetato e formação de metano. Portanto, se por alguma razão, a taxa de remoção de ácidos voláteis por meio da metanogênese não acompanha a taxa de produção dos mesmos, pode surgir uma situação de instabilidade: a produção líquida de ácido resulta na tendência de diminuição do valor do pH, o que poderá causar uma redução adicional da atividade metanogênica e o aumento da produção líquida de ácido. Na prática esse aumento da acidez, conhecido como “azedamento” no reator anaeróbio, é a causa mais comum de falha operacional de sistemas anaeróbios. Este perigo pode ser evitado mantendo-se o equilíbrio entre as fermentações ácida e metanogênica, a capacidade metanogênica alta, e uma boa estabilidade do pH, por meio de uma alta capacidade tamponante (ADAMS, 1986; BITTON, 1994).

A temperatura e faixa de pH ótima para as arqueobactérias metanogênicas são de 35 °C e 7,0 a 7,8, respectivamente. Uma composição típica do biogás é 70 a 75% CH₄, 20 a 25% CO₂ e 5% H₂S e outros gases como NO₂, H₂, CO (SHULER e KARGI, 2002).

2.5. Fatores que afetam a microbiologia da digestão anaeróbia

O crescimento microbiano é influenciado por características físicas e químicas do ambiente. Em geral, fatores físicos atuam como agentes seletivos de grupos microbianos enquanto fatores químicos podem ou não ser seletivos (CHERNICHARO, 1997).

A digestão anaeróbia é particularmente suscetível a variações nas condições ambientais, uma vez que o processo requer a interação das bactérias fermentativas e metanogênicas. Atenção especial deve ser dispensada às arqueobactérias metanogênicas, consideradas as mais vulneráveis a alterações das condições do meio (LETTINGA, HULSHOF e ZEEMAN, 1996).

Fatores ambientais importantes no controle da digestão anaeróbia de águas residuárias são temperatura, pH, composição química do efluente, presença de nutrientes, competição entre metanogênicas e bactérias redutoras de sulfato e presença de materiais tóxicos (BITTON, 1994; VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

Temperatura

A possibilidade de controlar a temperatura do efluente pelo aproveitamento da energia química do metano ainda é muito limitada, e a utilização de outra forma de energia para controle da temperatura no reator também é incomum. Assim, a temperatura no reator dependerá do processo produtivo da indústria e do clima na região onde o efluente é produzido, sendo quase sempre um valor abaixo da temperatura ótima para a digestão anaeróbia que se encontra na faixa de 30 a 35 °C (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

A digestão anaeróbia do efluente depende fortemente da temperatura, visto que os microrganismos não possuem meios de controlar sua temperatura interna e, dessa forma, a temperatura no interior da célula é determinada pela temperatura ambiente externa (CHERNICHARO, 1997).

A produção microbiana de metano pode ocorrer numa faixa ampla de temperatura de 0 a 97 °C, observando-se dois níveis ótimos associados à digestão anaeróbia, um na faixa mesofílica de 30 a 35 °C e o outro na faixa termófila de 50 a 55 °C. A digestão termofílica permite a aplicação de cargas mais elevadas, além de conduzir a uma maior destruição de patógenos; porém, é mais susceptível a substâncias tóxicas. A digestão anaeróbia é possível a temperaturas em torno de 10 °C, porém a eficiência e a taxa de digestão diminuem muito com a redução da temperatura. Dessa forma, o processo é mais atrativo para aplicação em regiões tropicais e subtropicais, onde a temperatura do efluente normalmente não atinge valores inferiores a 18 °C (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994; CHERNICHARO, 1997).

O efeito da temperatura nos dois primeiros estágios do processo de digestão anaeróbia, hidrólise e acidogênese, não é muito relevante visto que em uma população mista sempre existe alguma bactéria com seu ótimo na faixa de interesse. Os dois últimos estágios da decomposição são mais sensíveis a alterações na temperatura por serem realizados por microrganismos específicos envolvendo bactérias acetogênicas e arqueobactérias metanogênicas (RAJESHWARI et al., 2000).

pH

O efeito do pH sobre o processo anaeróbio se manifesta de duas formas: diretamente, afetando por exemplo atividade de enzimas por meio de alterações em sua conformação; ou indiretamente, afetando a toxicidade de diferentes compostos (LETTINGA, HULSHOF e ZEEMAN, 1996).

O valor e a estabilidade do pH no reator anaeróbio são extremamente importantes. Para reatores de fase única a faixa recomendada encontra-se entre 6,0 e 8,0 (ARCHER, 1983). Uma taxa elevada de metanogênese só pode se desenvolver quando o pH se mantém em uma faixa estreita próxima à neutralidade, sendo a faixa ótima de 7,0 a 7,8 (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994; SHULER e KARGI, 2002).

As populações microbianas responsáveis pela fermentação ácida são bem menos sensíveis a alterações de pH, podendo prevalecer sobre a fermentação metanogênica, a um pH baixo, resultando no aumento acentuado de acidez no reator. Assim, um aumento do nível de ácidos voláteis serve como indicador de perturbações no sistema. Nesse caso, o reator somente começará a funcionar novamente após a adição de alcalinidade externa, por meio da introdução de químicos como cal, amônia, hidróxido de sódio ou bicarbonato de sódio.

O valor do pH no reator se estabelece após o equilíbrio iônico dos diferentes sistemas ácido-base presentes. Os sistemas de ácidos fracos não completamente ionizados são os mais importantes para estabelecer o pH e, em particular, o sistema carbônico (CO_2 - HCO_3^- - CO_3^{--}) pode ser determinante para o valor e estabilidade do pH no reator (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

Composição química do efluente

O consórcio de microrganismos envolvido na digestão anaeróbia é capaz de produzir metano a partir de carboidratos, proteínas, lipídeos, podendo ainda alguns grupos utilizar compostos aromáticos complexos como fonte de carbono. Contudo, certos compostos como lignina e n-parafinas dificilmente são degradados pelas bactérias anaeróbias.

Para manutenção de uma digestão anaeróbia adequada, o efluente deve ser nutricionalmente balanceado com relação aos teores de nitrogênio, fósforo, enxofre, dentre outros. Metanogênicas utilizam amônia e sulfeto como fontes de nitrogênio e enxofre, respectivamente. Embora o sulfeto na forma não-ionizada em níveis superiores a 150-200 mg.L⁻¹ seja tóxico para as metanogênicas, essa substância é requerida como fonte de enxofre (SPEECE, 1983).

Presença de nutrientes

As necessidades nutricionais das populações microbianas envolvidas nos processos biológicos de tratamento são usualmente estabelecidas a partir da composição química das células microbianas. Como a composição exata é raramente conhecida, os requisitos de nutrientes são determinados com base na composição empírica das células microbianas (CHERNICHARO, 1997).

Para que os processos biológicos de tratamento sejam operados com sucesso, os nutrientes inorgânicos necessários ao crescimento dos microrganismos devem ser fornecidos em quantidades suficientes. O não suprimento de nutrientes deve ser compensado de alguma forma, seja por meio da aplicação de menores cargas ao sistema de tratamento, ou permitindo que a eficiência do sistema seja reduzida (CHERNICHARO, 1997; RAJESHWARI et al., 2000).

Competição entre arqueobactérias metanogênicas e bactérias redutoras de sulfato

Arqueobactérias metanogênicas e bactérias redutoras de sulfato competem pelo mesmo doador de elétrons, acetato e H₂, sendo o resultado dessa competição dependente das condições ambientais impostas aos microrganismos. Os fatores mais importantes são o pH e a concentração de sulfeto no meio de reação.

Visto que bactérias redutoras de sulfato e arqueobactérias metanogênicas apresentam diferentes faixas de pH ótimo e pH para crescimento, o pH do reator desempenha uma importante função na determinação do grupo trófico predominante. Além disso, assumindo-se que a molécula de sulfeto de hidrogênio não-dissociada é agente de toxicidade, o pH do sistema determina qual a fração da concentração total de sulfeto de hidrogênio encontra-se na forma não dissociada (BITTON, 1994; O'FLAHERTY et al., 1998).

O estudo cinético do crescimento desses dois grupos de microrganismos mostra que as bactérias redutoras de sulfato apresentam uma maior afinidade por acetato que as metanogênicas. Assim, em baixas concentrações de acetato, bactérias redutoras de sulfato competirão com as metanogênicas, desviando elétrons da geração de metano para a redução de sulfato (McFARLAND e JEWELL, 1990). Metanogênicas e bactérias redutoras de sulfato são muito competitivas a proporções de DQO/SO₄ de 1,7-2,7. Um aumento dessa razão favorece as metanogênicas, enquanto uma diminuição é favorável às redutoras de sulfato (BITTON, 1994).

Materiais tóxicos

Normalmente, muitos produtos químicos estão presentes em efluentes industriais, podendo conduzir a dois tipos de fenômenos: inibição do crescimento microbiano ou morte dos microrganismos presentes nas unidades de tratamento. A toxicidade de efluentes complexos é difícil de ser julgada pela avaliação de compostos isolados, devido à possível ocorrência de efeitos antagônicos ou de sinergismo. Além disso, um determinado composto pode exercer diferentes efeitos em diferentes grupos de microrganismos presentes nas unidades de tratamento de efluentes como bactérias anaeróbias, nitrificantes, denitrificantes dentre outras (LÓPEZ-FIUZA et al., 2002).

A sensibilidade a compostos tóxicos tem sido considerada uma das principais razões da não utilização mais ampla da digestão anaeróbia e do não aproveitamento de suas diversas vantagens, uma vez que existe uma percepção difundida de que os processos anaeróbios não são capazes de tolerar a toxicidade (PARKIN e SPEECE, 1982; PARKIN et al., 1983; KHALIL et al., 1988; FANG e CHAN, 1997). Visto que qualquer composto, quando presente em concentrações suficientemente elevadas pode ser tóxico, a toxicidade deve ser discutida em termos de níveis tóxicos ao invés de materiais tóxicos. Considerações pertinentes como as concentrações requeridas para causar toxicidade, reversibilidade do efeito tóxico e potencial de aclimação dos microrganismos, devem ser observadas (CHERNICHARO, 1997).

Vários fatores influenciam a ação de químicos sobre microrganismos, dentre eles a natureza específica do agente químico, natureza específica dos microrganismos, concentração do agente químico, tempo de contato, temperatura, presença de matéria orgânica e tensão superficial (GAINEY e LORD, 1952).

A inibição tóxica por químicos orgânicos e inorgânicos é o principal problema encontrado durante o tratamento biológico de efluentes industriais. Dentre os químicos inorgânicos, destacam-se:

- Amônia, que na forma não-ionizada é tóxica aos microrganismos metanogênicos. Contudo, visto que a produção de amônia não-ionizada depende do pH, pouca toxicidade é observada em pH neutro (BITTON, 1994);

- Metais pesados como Cu^{++} , Pb^{++} , Cd^{++} , Ni^{++} , Zn^{++} , Cr^{+6} encontrados em efluentes e lodos de origem industrial são inibidores da digestão anaeróbia. A toxicidade dos metais é reduzida por meio da reação com sulfeto de hidrogênio, que conduz à formação de precipitados insolúveis de metais pesados. Contudo, alguns metais como níquel, cobalto e molibdênio podem estimular as arqueobactérias metanogênicas em concentrações traço (BITTON, 1994; VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994);

- Sulfeto, um dos maiores inibidores da digestão anaeróbia. O sulfeto pode ser formado dentro do reator pela redução de sulfato. No entanto, a faixa de concentração de sulfeto para uma toxicidade considerável encontra-se entre 150 e 200 mg.L^{-1} , muito acima da concentração normalmente presente em águas residuárias, entre 2 e 20 mg.L^{-1} (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

O grupo de químicos orgânicos inclui compostos orgânicos clorados, compostos fenólicos, surfactantes, pesticidas, dentre outros. Alguns desses compostos, denominados xenobióticos, são estranhos aos sistemas biológicos como hidrocarbonetos clorados, compostos fenólicos, ácidos graxos de cadeia longa, taninos (BITTON, 1994).

Os compostos xenobióticos, em sua maioria, são recalcitrantes, ou seja, resistentes à biodegradação. Algumas das razões mais comuns para essa recalcitrância são substituições não usuais, como cloro e outros halogênios; ligações químicas não usuais, como átomos de C terciário e quaternário; anéis aromáticos altamente condensados e de tamanho molecular excessivo (WALTER e CRAWFORD, 1996).

Existem duas preocupações com relação ao destino dos químicos orgânicos tóxicos nas unidades de tratamento de efluentes: biodegradação desses compostos, sabendo-se que é desejável a mineralização de xenobióticos a CO_2 ou, no mínimo, a metabólitos menos tóxicos; e toxicidade dos xenobióticos a organismos do tratamento de efluentes, com subsequente redução na remoção de DBO ou inibição da nitrificação e produção de metano (BITTON, 1994).

Neste estudo, o fator ambiental enfatizado é a presença de substâncias tóxicas, mais especificamente, agentes químicos normalmente utilizados nos procedimentos de higienização de indústrias de alimentos.

2.6. Agentes químicos empregados nos procedimentos de higienização

Os processos de higienização nas indústrias de alimentos geralmente se constituem de duas etapas: limpeza e desinfecção. A eficiência com a qual essas operações são realizadas afeta diretamente a qualidade do produto final.

De forma resumida, as etapas básicas envolvidas no procedimento de limpeza são: remoção da sujidade grosseira; remoção da sujeira residual com auxílio de detergentes e enxágüe para remoção do detergente e da sujidade. Porém, freqüentemente a limpeza é sucedida por um procedimento de sanificação ou esterilização, que envolve dois passos adicionais: a desinfecção ou esterilização de superfícies, com agentes adequados para destruir microrganismos, e o enxágüe desses agentes. O enxágüe se faz necessário somente quando agentes químicos são empregados. Métodos físicos como calor e radiação também podem ser utilizados na etapa de sanificação (HAYES, 1995).

O modo de realização da limpeza depende da natureza da sujidade ou contaminação a ser removida, do tipo de superfície a ser limpa, dos materiais utilizados para a limpeza, do grau de dureza da água utilizada e do padrão de limpeza requerido. A limpeza adequada de equipamentos, utensílios, pisos, paredes e do ambiente é responsável por até 90% da eficiência do processo de higienização, visto que uma limpeza eficiente da superfície é essencial para remover sujidades que podem proteger o microrganismo da ação do sanitizante e propiciar condições para formação de biofilmes (BERUBE e OXBORROW, 1991; HAYES, 1995).

2.6.1. Detergentes

A função dos detergentes é auxiliar na remoção de sujidades por meio do amolecimento da sujeira presente em uma determinada superfície, mantendo-a em solução de modo que possa ser removida durante o enxágüe. Este procedimento também reduzirá o número de microrganismos presentes no equipamento, porém a função primária dos agentes de limpeza é auxiliar na remoção de sujidades (ICMSF, 1995).

Dentre as características desejáveis para um detergente ideal destacam-se: solubilidade em água à temperatura desejada; não corrosivo a superfícies de equipamentos; não irritante à pele e aos olhos; não tóxico; inodoro; biodegradável; econômico; fácil enxágüe; estável durante períodos prolongados de estocagem; efetivo para todos os tipos de sujidades (HAYES, 1995).

Além dessas características, devido ao amplo espectro de substâncias a serem removidas, os detergentes devem apresentar as seguintes propriedades:

- umedecer a superfície da sujidade, facilitando assim a penetração da solução de higienização em locais de difícil acesso e a remoção da sujeira da superfície;
- dispersar materiais insolúveis que, caso contrário podem formar agregados, mantendo-os em suspensão de modo que serão enxaguados antes que possam se depositar novamente sobre a superfície limpa;
- dissolver sujidades solúveis, independente de sua natureza, orgânica ou inorgânica. Quanto mais rápida a dissolução, melhor o detergente;
- emulsificar óleos e gorduras, quebrando-os em glóbulos menores e, conseqüentemente, dispersando-os e mantendo-os suspensos em solução;
- saponificar gorduras, convertendo-as em sabões solúveis;
- sequestrar, removendo ou inativando, sais de cálcio e magnésio dissolvidos em águas duras impedindo assim sua precipitação.

Em geral, propriedade bactericida não é uma característica esperada nos detergentes, porém alguns apresentam este atributo. No entanto, detergentes removem fisicamente um grande número de bactérias durante a limpeza facilitando assim o processo subsequente de desinfecção.

Visto que nenhum químico apresenta todas as propriedades citadas, faz-se necessária a combinação de diferentes químicos para formulação de detergentes corretamente balanceados específicos para uma determinada necessidade de limpeza.

Os agentes detergentes são convenientemente classificados como:

1. Alcalinos inorgânicos: cáusticos e não-cáusticos;
2. Ácidos: orgânicos e inorgânicos;
3. Agentes tensoativos: aniônicos, catiônicos, não-iônicos e anfóteros;
4. Agentes complexantes: orgânicos e inorgânicos.

Alcalinos inorgânicos

Muitos detergentes apresentam um álcali como um de seus principais ingredientes, devido à sua função de deslocamento de resíduos por saponificação e sua capacidade de solubilizar proteínas. Os detergentes alcalinos, em geral, precipitam os sais insolúveis de cálcio e magnésio presentes na água dura. Portanto, agentes seqüestrantes devem ser incorporados às formulações de todos os detergentes alcalinos (WALKER e LAGRANGE, 1991; HAYES, 1995). Os principais compostos incluídos neste grupo e suas respectivas características são apresentados no QUADRO 4.

Ácidos orgânicos e inorgânicos

Os ácidos não são muito utilizados em indústrias de alimentos devido à sua corrosividade e falta de versatilidade como limpadores. Além disso, muitos são perigosos e podem causar graves queimaduras à pele. No entanto, controlam o depósito de minerais e atuam no abrandamento da água. Dentre os inorgânicos, os ácidos nítrico e fosfórico são comumente utilizados pois são mais fracos e menos corrosivos. Os ácidos orgânicos, que apresentam ação bacteriostática, são mais suaves que os ácidos inorgânicos e são, portanto, mais seguros para manusear. Dentre os ácidos orgânicos comumente incorporados às formulações estão ácidos glucônico, hidroxiacético, cítrico e tartárico. Detergentes ácidos normalmente incluem inibidores de corrosão e agentes tensoativos (HAYES, 1995). As principais características de alguns compostos pertencentes a este grupo também são apresentadas no QUADRO 4.

QUADRO 4 – Principais propriedades de importantes componentes de formulações de detergentes^a.

Detergente		Poder de	Poder de	Poder de	Poder	Poder de	Poder	Enxágüe	Não-	Poder
Classe	Componente	molhagem	dispersão	dissolução	emulsificante	saponificação	seqüestrante		corrosivo^b	bactericida
Alcalinos inorgânicos	Hidróxido de sódio	1	1	4	1	4	0	1	0	4
	Metassilicato de sódio	2	3	3	3	3	1	3	2	2
	Carbonato de sódio	1	1	2	1	2	0	1	2	1
	Fosfato trissódico	2	3	2	3	3	2	3	1	2
Ácidos	Ácido sulfâmico	1	1	3	1	1	3	1	0	3
	Ácido hidróxiacético	1	1	2	1	1	3	2	2	2
Surfactantes	Alquil benzeno sulfonato de sódio	4	4	2	4	0	0	4	4	0
	Lauril sulfato de sódio	4	4	2	4	0	0	3	4	0
	Nonil fenol etoxilato de sódio	4	4	2	4	0	0	2	4	0
	Dodecil diaminoetil glicina	4	3	2	4	0	0	3	4	1
Seqüestrantes	Pirofosfato tetrassódico	1	2	2	2	2	3	3	4	1
	Tripolifosfato de sódio	1	3	3	2	1	3	2	4	0
	Hexametafosfato de sódio	1	3	1	2	1	3	3	4	0

^a 4 = excelente; 3 = bom; 2 = moderado; 1 = pouco; 0 = nenhuma atividade

^b 0 nesta coluna representa produto corrosivo altamente indesejável, 4 representa não corrosivo

Fonte: HAYES, 1995.

Agentes tensoativos

Os agentes tensoativos reduzem a tensão superficial da água, facilitando assim a molhagem. Um agente tensoativo clássico é o sabão, normalmente composto de sais de sódio ou potássio de ácidos graxos como ácido esteárico, palmítico e oléico. Os sabões são razoavelmente efetivos em água mole mas sua solubilidade reduzida em água fria constitui uma desvantagem. Além disso, sabões formam precipitados com o cálcio presente em água dura. Por essas razões é cada vez mais freqüente sua substituição por detergentes sintéticos, que podem ser aniônicos, catiônicos, não-iônicos ou anfóteros, dependendo de sua carga elétrica ativa quando em solução. Quando cargas negativas predominam, o surfactante é classificado como aniônico. Quando as cargas predominantes são positivas, catiônico. Agentes tensoativos que não se dissociam em solução são designados não-iônicos, enquanto aqueles cuja carga predominante varia de acordo com as condições do meio são denominados anfóteros. Na FIG. 2, são apresentadas estruturas de alguns agentes tensoativos (HAYES, 1995).

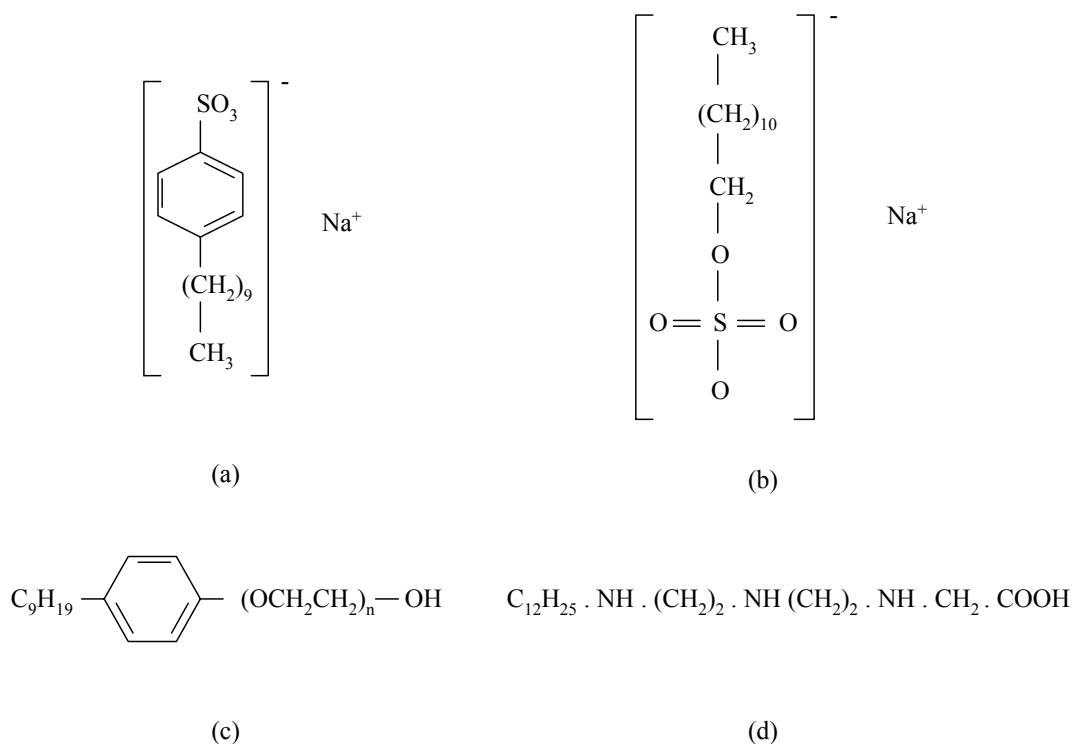


FIGURA 2 – Fórmula estrutural de alguns agentes tensoativos: (a) alquil benzeno sulfonato de sódio - aniônico, (b) lauril sulfonato de sódio – aniônico, (c) nonil fenol etoxilato - não-iônico; (d) dodecil diaminoetil glicina - anfótero.

A estrutura molecular dos agentes tensoativos apresenta uma porção hidrofílica e uma porção hidrofóbica. Assim, uma extremidade da molécula é atraída pela água e a outra por óleos e gorduras. Estabelece-se, portanto, uma ligação entre a água e o óleo, que é a base da ação de limpeza dos surfactantes (HAYES, 1995).

Os surfactantes normalmente são altamente solúveis em água fria, não são muito afetados por água dura e muitos são estáveis em condições ácidas e básicas. Ainda que a atividade bactericida de detergentes aniônicos e não-iônicos seja fraca, alguns detergentes catiônicos apresentam excelente atividade bactericida, embora não sejam tão bons como detergentes. Por essa razão, os surfactantes catiônicos são utilizados como desinfetantes. Outras particularidades de alguns dos agentes tensoativos mais empregados nos procedimentos de limpeza são apresentadas no QUADRO 4.

As concentrações de surfactantes no ambiente têm aumentado consideravelmente, considerando-se a ampla utilização de detergentes sintéticos para fins industriais e domésticos nas últimas décadas (MEZZANOTTE et al., 2003).

Agentes complexantes

Água mole possui propriedades de limpeza que são progressivamente enfraquecidas quanto maior a presença de sais de cálcio e magnésio dissolvidos. Uma maior dureza da água está associada a uma tendência aumentada de precipitação dos sais, formando incrustações. Os agentes complexantes, também denominados seqüestrantes, são adicionados aos detergentes para impedir a precipitação do sal porém, em longo prazo, a utilização de um tratamento para abrandamento da água de abastecimento pode ser uma opção mais barata que a adição de altas concentrações de seqüestrantes aos detergentes. Obviamente, a quantidade de seqüestrante adicionada depende do grau de dureza da água e da formulação total do detergente (HAYES, 1995).

Os agentes complexantes inorgânicos mais utilizados são os polifosfatos de sódio que, além das propriedades desejadas, são bons agentes emulsificantes, agentes de dissolução, agentes de dispersão e melhoram o enxágüe. Os principais seqüestrantes orgânicos, também conhecidos como agentes quelantes, são ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), ácido nitrilotriacético (NTA), seus sais de sódio e potássio, e os sais de sódio dos ácidos glucônico e heptônico.

Apesar do custo relativamente elevado, os agentes quelantes são muito utilizados devido à sua alta solubilidade em formulações líquidas de detergentes. Características de alguns dos agentes complexantes mais utilizados são apresentadas no QUADRO 4, e suas fórmulas estruturais, na FIG. 3.

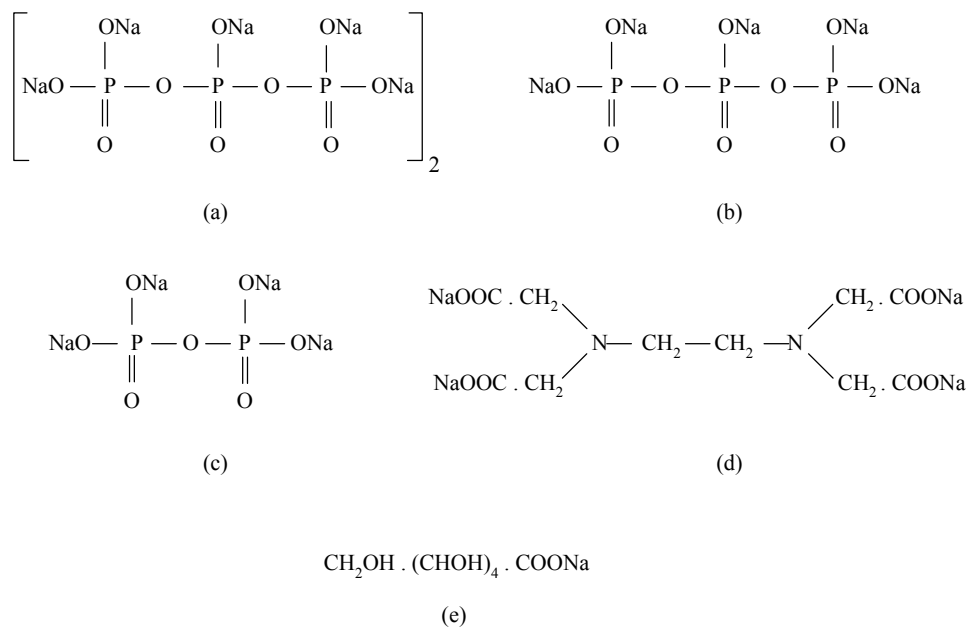


FIGURA 3 - Fórmula estrutural de alguns agentes complexantes inorgânicos: (a) hexametáfosfato de sódio, (b) tripolifosfato de sódio, (c) pirofosfato tetrassódico; e orgânicos: (d) ácido etilenodiaminotetraacetato de sódio, (e) gluconato de sódio.

As formulações de detergentes são, portanto, misturas combinadas de diferentes químicos, cada qual contribuindo para as propriedades desejadas. Sendo o custo um fator importante, os ingredientes devem ser aproveitados da melhor forma possível e utilizados em concentrações que alcancem, economicamente, o grau de limpeza desejado.

2.6.2. Sanitizantes

Para desinfecção de superfícies de equipamentos e tubulações em contato com alimentos raramente se faz necessário alcançar esterilidade total. Normalmente, o objetivo é reduzir o número de microrganismos alteradores em níveis considerados seguros e eliminar patógenos, garantindo assim a qualidade microbiológica do produto que entre em contato com essas superfícies (HAYES, 1995).

Calor ou agentes químicos podem ser utilizados nas operações de desinfecção, mas é importante salientar que esse procedimento deve ser precedido pela etapa de limpeza. A eficiência dos desinfetantes químicos é afetada pela presença de sujidades e, assim, quanto mais limpa a superfície mais efetivo será o desinfetante (HAYES, 1995; ICMSF, 1995).

Os desinfetantes aplicados em superfícies que entram em contato com alimentos devem, idealmente, apresentar as seguintes características (HAYES, 1995):

- capacidade de eliminar microrganismos rapidamente e, em particular, igualmente efetivo contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. A maioria dos esporos de fungos deve ser eliminada e a destruição de esporos bacterianos deve ser uma vantagem adicional;

- estabilidade razoável na presença de resíduos orgânicos e, se necessário, efetivo na presença de sais de água dura;

- não-corrosivo e não causar manchas em superfícies de qualquer tipo;

- inodoro ou possuir odor inofensivo;

- não-tóxico e não causar irritações na pele e nos olhos;

- prontamente solúvel em água e de fácil enxágüe;

- estável durante períodos prolongados de estocagem na forma concentrada e estável durante curto tempo de estocagem na forma diluída;

- preço competitivo e econômico no uso.

Os fatores que influenciam a eficiência dos desinfetantes convencionais após a limpeza úmida incluem: concentração do desinfetante, tempo de contato, temperatura, pH, dureza da água, detergentes residuais, quantidade e tipo de matéria orgânica presente, tipo de superfície e tipos e níveis de microrganismos a serem eliminados (ICMSF, 1995).

Embora muitos agentes químicos sejam bactericidas, poucos apresentam todas as características listadas acima. Dentre os sanitizantes químicos mais utilizados encontram-se os compostos clorados, compostos iodados, compostos quaternários de amônio, formulações à base de clorhexidina, ácido peracético e peróxido de hidrogênio. Esses agentes se caracterizam por apresentarem níveis variáveis de eficiência em virtude das diferentes formulações, pH, condições de armazenamento e resíduos contaminantes (GIESE, 1991; ANDRADE e MACÊDO, 1996).

MACÊDO, ANDRADE e MELLO (1996) avaliaram a ação sanitizante dos principais agentes químicos citados sobre um indicador biológico específico, um isolado psicrotrófico acidificante denominado LC-32, alterador de leite armazenado sob refrigeração. A eficiência dos sanitizantes foi avaliada por meio das reduções decimais (RD) obtidas para cada solução sanitizante, sendo RD igual à diferença entre o logaritmo decimal das células aderidas nos cupons e o logaritmo decimal das células sobreviventes determinadas por contagem de placas, usando PCA e incubação a 30 °C por 48 horas. Os resultados obtidos mostram três níveis de eficiência entre os sanitizantes, pelo teste de Duncan ($P < 0,05$), conforme apresentado no QUADRO 5.

QUADRO 5 – Médias de reduções decimais na população de psicrotrófico acidificante LC-32 submetida à ação de sanitizantes químicos.

Produto analisado	Médias	Comparações
Ácido peracético	6,30	a
Amônia quaternária	7,40	a
Hipoclorito de sódio	4,53	b
Peróxido de hidrogênio	4,49	b
Clorhexidina	4,42	b
Iodóforo	3,35	c

Médias seguidas de pelo menos uma letra igual, não apresentam diferença significativa entre si, pelo teste de Duncan, a nível de 5% de probabilidade.

Um resumo dos fatores a serem considerados para a seleção de um determinado sanitizante é apresentado no QUADRO 6. Outros fatores que afetam a seleção de um desinfetante incluem toxicidade, efeito sobre o alimento que está sendo produzido, alterações nos equipamentos como manchas, aprovação governamental da composição do desinfetante, necessidade de enxágüe com água potável para remoção e efeito sobre o ambiente e o tratamento de efluentes (ICMSF, 1995).

Os sanitizantes podem afetar os microrganismos por vários mecanismos, muitos dos quais são pouco compreendidos. Segundo BLOCK (1991a), de acordo com as concentrações, muitos agentes químicos podem alterar a permeabilidade da membrana citoplasmática e até mesmo destruí-la, alguns podem destruir a parede celular e outros podem inibir sistemas enzimáticos essenciais à célula. Alguns sanitizantes são ainda capazes de oxidar componentes celulares ou mesmo inibir a síntese de ácidos nucleicos.

QUADRO 6 – Comparação dos desinfetantes comumente utilizados no processo de sanificação.

Propriedades	Compostos Clorados	Iodóforos	Compostos Quaternários	Clorhexidina	Ácido Peracético	Peróxido de hidrogênio
Efetivo contra bactérias Gram +	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
Efetivo contra bactérias Gram -	Bom	Bom	Fraco	Bom	Bom	Bom
Efetivo contra esporos	Bom	Regular	Fraco	Fraco	Bom	Bom
Efetivo contra bacteriófagos	Bom	Bom	Fraco	Fraco	Bom	-
Corrosivo	Sim	Levemente	Não	-	À cobre, ferro e alumínio	À cobre, zinco e bronze
Afetado por água dura	Não	Levemente	Dependente da cadeia alquil	Sim	Não	-
Irritante à pele	Sim	Não	Não	Não	Sim	Em altas concentrações
Afetado por matéria orgânica	A maioria	Alguns	Poucos	-	Não	Sim
Incompatível com	Fenóis, aminas	Amido, prata	Tensoativos aniônicos, sabões	Ânions orgânicos e inorgânicos	Ácidos e álcalis concentrados, borrachas	-
Estabilidade da solução de uso	Instável	Instável	Estável	Estável	Instável	Muito estável
Atividade residual	Não	Sim	Sim	-	Não	Não
Custo	Muito barato	Barato	Caro	-	Caro	
Efetivo a pH neutro	Sim	Não	Sim	Depende do organismo	Sim	Sim

Fonte: BLOCK, 1991b; DENTON, 1991; ANDRADE e MACÊDO, 1996; ICMSF, 1995; MARTINS e KUAYE, 1996; KITIS, 2004.

Compostos clorados

Os compostos clorados podem ser classificados em orgânicos e inorgânicos, sendo os últimos mais utilizados para sanificação de equipamentos, uma vez que apresentam hidrólise imediata em solução aquosa e, portanto, apresentam ação rápida, evitando problemas de corrosão (WEI et al., 1985). Dentre os principais compostos classificados como inorgânicos estão os hipocloritos, cloro gás e dióxido de cloro. Cloraminas, derivados do ácido isocianúrico e diclorodimetilhidantoína são os principais compostos clorados orgânicos (FIG. 4). Algumas das propriedades dos compostos clorados são apresentadas no QUADRO 6.

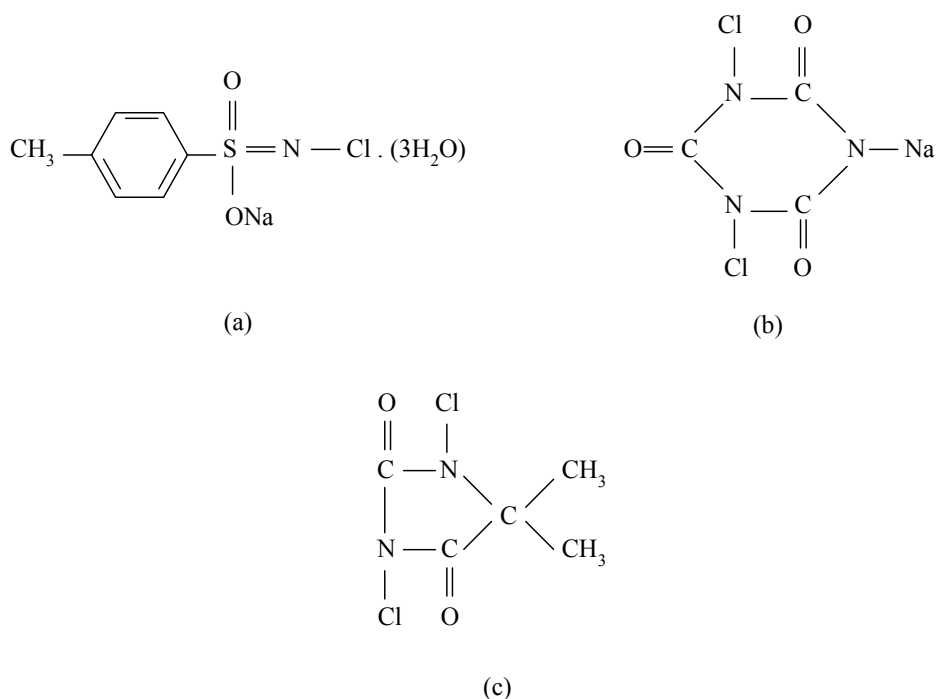


FIGURA 4 – Estruturas químicas de compostos clorados orgânicos: (a) cloramina T; (b) dicloroisocianurato de sódio; (c) diclorodimetilhidantoína.

Nas indústrias de alimentos, os compostos clorados são utilizados para o tratamento da água de processamento de produtos enlatados esterilizados, para a sanificação de superfícies de paredes, pisos, utensílios e equipamentos, para a redução da carga microbiana das superfícies de alimentos (WEI et al., 1985).

O poder bactericida dos compostos clorados normalmente baseia-se na liberação, quando em solução aquosa, do ácido hipocloroso em sua forma não-dissociada (HClO), com exceção do dióxido de cloro. Cloro, como HClO ou ClO⁻, é definido cloro residual livre. As reações de hidrólise do cloro, hipoclorito de sódio, cloraminas orgânicas e ácido hipocloroso, em solução aquosa, são apresentadas nas equações 1, 2, 3 e 4, respectivamente (ANDRADE e MACÊDO, 1996):



A concentração de ácido hipocloroso é determinada pela constante de dissociação (pK_a 7,5 a 30 °C), pelo pH e pela concentração de cloro residual livre da solução, relacionados pela equação 5 (ANDRADE e MACÊDO, 1996). A diminuição do pH aumenta a atividade biocida, pois a reação ocorre no sentido de formar HClO na presença de íons H⁺; já o aumento do pH diminui a atividade biocida, uma vez que a reação ocorre na direção reversa na presença de OH⁻ (DYCHDALA, 1991).

$$\text{mg.L}^{-1} \text{ de HClO} = \frac{\text{mg.L}^{-1} \text{ de cloro residual livre}}{1 + 10^{\text{pH} - 7,5}} \quad (5)$$

Várias teorias tentam explicar os mecanismos de ação do cloro sobre as formas vegetativas de bactérias, dentre elas:

- oxidação aparentemente irreversível de grupos sulfidrilas (-SH) de certas enzimas da via glicolítica. Esta é a hipótese mais aceita (DYCHDALA, 1991);
- descarboxilação oxidativa de aminoácidos, formando nitrilas e aldeídos (ANDRADE e MACÊDO, 1996);
- combinação com proteínas e formação de compostos N-cloro tóxicos (WEI et al., 1985; DYCHDALA, 1991; ANDRADE e MACÊDO, 1996);
- rompimento da integridade da membrana, dificultando o transporte de carboidratos e aminoácidos, podendo levar ao extravasamento celular (DYCHDALA, 1991; ANDRADE e MACÊDO, 1996; BITTON, 1994);
- destruição da síntese protéica (BITTON, 1994);
- oxidação das bases purínicas e pirimidínicas dos ácidos nucleicos (BITTON, 1994).

Compostos iodados

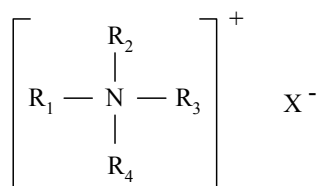
O iodo tem sido aplicado como sanificante há mais de um século nas formas de tintura de iodo, solução de iodo alcoólico e soluções contendo iodo metálico. No entanto, nestas formas o iodo apresenta restrições em sua utilização devido à sua baixa ação de molhagem, excessiva pressão de vapor, problemas com solubilidade, dentre outras. Por isso, o emprego do iodo como sanitizante na indústria de alimentos tornou-se viável com o desenvolvimento de formulações conhecidas como iodóforos que consistem de misturas solúveis de iodo e surfactantes tipicamente não-iônico, embora surfactantes aniônicos e catiônicos possam ser utilizados. A atividade bactericida compete ao iodo, sendo os surfactantes apenas agentes veiculadores. As principais propriedades dos iodóforos são apresentadas no QUADRO 6.

Os iodóforos são utilizados na diminuição da microbiota de manipuladores de alimentos, sanificação de equipamentos e utensílios, e diminuição da microbiota ambiental, quando aplicados na forma de nebulização. São muito empregados em laticínios onde, em adição ao poder bactericida, o ácido fosfórico atua no controle da formação de pedras de leite (ANDRADE e MACÊDO, 1996; HAYES, 1995).

O mecanismo de ação antimicrobiana desempenhado pelo iodo ainda não foi completamente esclarecido. Contudo, segundo GOTTARDI (1991), a hipótese mais aceita baseia-se na oxidação da tirosina de enzimas essenciais e de outras proteínas celulares cujo metabolismo esteja envolvido com a tirosina. O iodo (I_2), componente do iodóforo, reage com grupos fenólicos do aminoácido tirosina, formando monoiododerivados ou diiododerivados. Além disso, o iodo reage também com ligações dupla carbono-carbono ($C=C$) dos ácidos graxos insaturados, com funções N-H presentes em alguns aminoácidos e nas bases de nucleotídeos, e com grupos S-H do aminoácido cisteína.

Compostos quaternários de amônio

Compostos quaternários de amônio, conhecidos como “quaternários” ou “quats”, são essencialmente sais de amônio com alguns ou todos os átomos de hidrogênio do íon $[NH_4]^+$ substituídos por grupos alquil. O ânion normalmente é o cloreto ou brometo. Assim, a fórmula geral desses compostos é (HAYES, 1995):



onde R₁, R₂, R₃ e R₄ representam um ou mais grupos alquil substituindo o hidrogênio e X⁻ representa um halogênio. A parte ativa da molécula é o cátion, enquanto o ânion é importante somente na solubilidade do quaternário. Exemplos de compostos quaternários normalmente utilizados na sanificação são apresentados na FIG. 6.

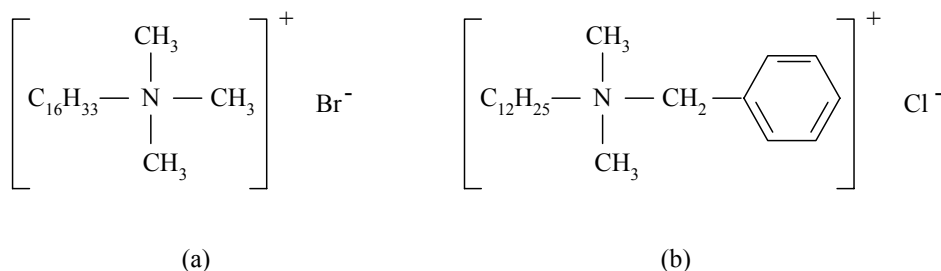


FIGURA 5 – Estrutura química de compostos quaternários: (a) brometo de cetiltrimetil amônio; (b) cloreto de laurildimetilbenzil amônio.

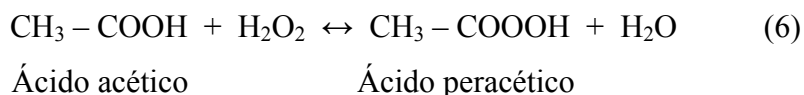
Os quaternários são agentes tensoativos catiônicos que apresentam uma atividade germicida mais relevante que sua capacidade de atuar como detergente. Na indústria de alimentos, são utilizados na sanificação de ambientes e também de pisos, paredes, equipamentos, utensílios e manipuladores de alimentos (ANDRADE e MACÊDO, 1996). Suas principais propriedades são apresentadas, resumidamente, no QUADRO 5.

Segundo MERIANOS (1991), os compostos quaternários de amônio atuam em nível de membrana celular, interferindo nas propriedades de permeabilidade e induzindo ao extravasamento de metabólitos e coenzimas, provocando assim a morte microbiana. O mecanismo de ação também interfere na inibição do metabolismo e na estrutura de proteínas, causando desnaturação protéica e dissociação das enzimas de seu grupo prostético.

Do ponto de vista ambiental, a propriedade mais importante de compostos quaternários de amônio é sua rápida e forte adsorção por uma série de materiais, incluindo sólidos suspensos de efluentes. Entretanto, dados sobre a biodegradação anaeróbia desses compostos e sua possível toxicidade às metanogênicas ainda são escassos (GARCÍA et al., 2000).

Ácido peracético

O ácido peracético, ou peróxido de ácido acético, é um forte agente oxidante e desinfetante, sendo seu potencial de oxidação maior que o do cloro ou dióxido de cloro. O ácido peracético é comercialmente disponível na forma de uma mistura de ácido acético, peróxido de hidrogênio, ácido peracético e água, conforme demonstrado na equação 6 (KITIS, 2004):



Por apresentarem ampla atividade antimicrobiana mesmo na presença de matéria orgânica e decomposição em produtos não-tóxicos ao meio ambiente, as soluções de ácido peracético têm sido crescentemente empregadas na sanificação de indústrias de alimentos e bebidas, principalmente laticínios e cervejarias (MARTINS e KUAYE, 1996; KITIS, 2004). As principais propriedades do ácido peracético também são apresentadas no QUADRO 6.

O mecanismo de ação das soluções de ácido peracético está associado à oxidação de grupos sulfidril (-SH) e ligações dissulfeto (S-S) de proteínas, enzimas e outros metabólitos, podendo também interferir em processos metabólicos e no equilíbrio osmótico da membrana (FRASER, 1987; BLOCK, 1991b; KITIS, 2004).

Clorhexidina

A clorhexidina é um composto químico sintético pertencente à série das bisbiguanidas, apresentando a seguinte fórmula estrutural (FIG. 6).

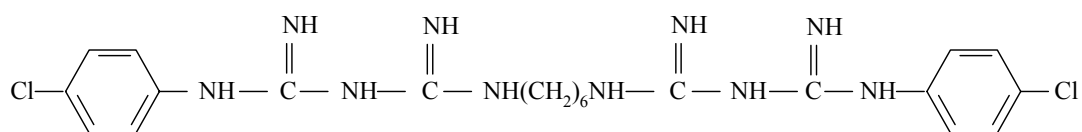


FIGURA 6 – Fórmula estrutural da clorhexidina (1,6-di (4-clorofenildiguanida) hexano).

As soluções aquosas deste germicida não possuem cor e odor, porém têm pouco efeito de molhagem, podendo ser utilizados tensoativos catiônico e não-iônico na melhora desta característica. Geralmente são comercializadas na forma de digluconato de clorhexidina em concentração de 20%p/v do princípio ativo, em solução aquosa (DENTON, 1991; ANDRADE e MACÊDO, 1996).

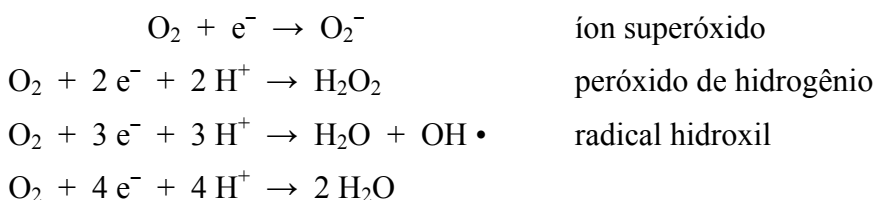
Na indústria de alimentos é empregada na redução da microbiota de manipuladores e na sanificação de equipamentos e utensílios, sendo ainda recomendada para controle microbiológico de salmouras no processamento de queijos (ANDRADE e MACÊDO, 1996).

A ação bactericida da clorhexidina relaciona-se com modificações citológicas e fisiológicas, as quais afetam especificamente a membrana citoplasmática. O sanitizante é absorvido rapidamente e reage com compostos constituídos por fosfatos presentes na superfície bacteriana, resultando no extravasamento de compostos de baixo peso molecular, como íons potássio. Inibição de certas enzimas ligadas à membrana, como adenosil trifosfatase (ATPase) e precipitação do citoplasma pela formação de complexos com compostos fosfatados como ATP e ácidos nucleicos também são mecanismos de sua ação antimicrobiana (DENTON, 1991).

Peróxido de hidrogênio

O peróxido de hidrogênio é um forte oxidante utilizado há décadas como agente bactericida e esporicida. Recentemente tem sido empregado na esterilização de embalagens de alimentos acondicionados assepticamente como leite e sucos de frutas. O calor ou enzimas como catalase e peroxidase destroem facilmente o peróxido de hidrogênio, fornecendo produtos finais inócuos, oxigênio e água (BLOCK, 1991b; ANDRADE e MACÊDO, 1996). As principais propriedades do peróxido de hidrogênio são apresentadas no QUADRO 6.

O peróxido de hidrogênio pode ser considerado um desinfetante natural, uma vez que está naturalmente presente no leite, mel e tecidos, como resultado do metabolismo celular. Nas células, é produzido pela redução do oxigênio em uma série de etapas enzimáticas, descritas a seguir:



O radical hidroxil é considerado o oxidante mais forte e, portanto, possui maior poder bactericida. Por ser altamente reativo, pode atacar lipídeos da membrana, DNA e outros componentes celulares essenciais. Metais de transição catalisam a reação de formação do radical hidroxil.

Embora a catalase produzida pelas células que respiram possa proteger a célula do dano causado pelos níveis de peróxido de hidrogênio produzido metabolicamente, essa defesa é reprimida pelas concentrações utilizadas nos procedimentos de desinfecção. Os microrganismos anaeróbios são mais sensíveis ao peróxido de hidrogênio, uma vez que não produzem catalase para hidrolisá-lo.

Compostos fenólicos

Muitos compostos fenólicos apresentam forte poder bactericida e são largamente empregados como desinfetante. Porém, não são utilizados em operações de desinfecção em indústrias de alimentos devido ao seu forte odor e à possibilidade de transmissão de sabores desagradáveis aos alimentos.

2.6.3. Detergentes sanitizantes

Os detergentes sanitizantes são combinações de ingredientes compatíveis e complementares que contém um detergente e um desinfetante de modo que as etapas de limpeza e desinfecção possam ser realizadas em uma única operação. Na prática, as formulações contêm outros componentes como agentes sequestrantes e tampões.

Em sua formulação, um detergente sanitizante ideal deve ser efetivo contra uma variedade de sujidades e um amplo espectro de microrganismos e sua utilização deve ser possível em várias situações, justificando sua aplicação do ponto de vista econômico. Os detergentes sanitizantes normalmente são mais caros e menos efetivos que seus ingredientes separados porém, caso uma simples aplicação demonstre ser adequada, economias no tempo e conveniência podem compensar sua aplicação (HAYES, 1995).

2.7. Concentrações residuais nos efluentes

Diferentes produtos químicos estão usualmente presentes em efluentes industriais. No caso da indústria de alimentos, a maioria desses produtos químicos procede das etapas de limpeza e sanificação de superfícies em geral: equipamentos, utensílios, tubulações, pisos e paredes (NAGEL et al., 1999).

A concentração residual de agentes de limpeza e sanitizantes químicos nos efluentes é variável e ainda pouco explorada, sendo necessário para determinação desse parâmetro o conhecimento das concentrações de agente químico e o volume médio de água utilizados nos procedimentos de higienização. O QUADRO 7 apresenta as concentrações dos agentes comumente empregadas no procedimento de higienização.

QUADRO 7 – Concentrações aproximadas de agentes de limpeza e sanitizantes normalmente utilizadas nos procedimentos de higienização de indústrias de alimentos.

Agentes Químicos	Exemplos	Concentração ^a
Alcalinos fortes	Hidróxido de sódio Ortossilicato de sódio Sesquisilicato de sódio	1-5%
Alcalinos moderados	Carbonato de sódio Sesquicarbonato de sódio	1-10%
Ácidos inorgânicos	Ácido nítrico Ácido fosfórico Ácido sulfâmico	0,5%
Ácidos orgânicos	Ácido acético Ácido hidroxiaético Ácido láctico	0,1-2%
Surfactantes aniônicos	Álcoois sulfatados Hidrocarbonetos sulfatados Alquil-aril poliéter sulfatos Alquil-aril sulfonatos	0,15% ou menos
Surfactantes não-iônicos	Polietenoxiéteres Óxido de etileno-ácidos graxos condensados Aminas-ácidos graxos condensados	0,15% ou menos
Surfactantes catiônicos	Quaternários de amônio	0,15% ou menos
Complexantes	Pirofosfato tetrassódico Tripolifosfato de sódio Hexametáfosfato de sódio	Variável (depende da dureza da água)
Compostos clorados inorgânicos	Hipoclorito de sódio Hipoclorito de potássio	200 mg.L ⁻¹ CRL ^b
Compostos clorados orgânicos	Ácido dicloroisocianúrico Ácido tricloroisocianúrico	100 mg.L ⁻¹ CRL
Compostos iodados	Iodóforos	25 mg.L ⁻¹ IRL ^c
Compostos quaternários de amônio	Ácido dodecilbenzenosulfônico Cloreto de n-alquilbenzildimetil amônio	400 mg.L ⁻¹ 200 mg.L ⁻¹
Ácido Peracético		700 mg.L ⁻¹
Clorhexidina		70 mg.L ⁻¹
Peróxido de hidrogênio		30%

^a Para agentes de limpeza são apresentadas as concentrações aproximadas, enquanto para as soluções sanitizantes têm-se as concentrações máximas; ^bCRL (Cloro residual livre); ^cIRL (Iodo residual livre).

Fonte: ICMSF, 1988.

2.8. Efeito dos agentes químicos na digestão anaeróbia

Normalmente muitos produtos químicos estão presentes em efluentes industriais, muitos deles podendo ser tóxicos aos microrganismos presentes nas unidades de tratamento. No caso da indústria alimentícia, a maioria desses produtos origina-se dos procedimentos de limpeza e sanificação como detergentes e sanitizantes (NAGEL et al., 1999; LÓPEZ-FIUZA et al., 2002). Os detergentes, em geral, são uma classe de compostos já conhecidos pela perturbação que provocam no desempenho de digestores anaeróbios (MENSAH e FORSTER, 2003).

A toxicidade de efluentes complexos é difícil de ser avaliada com relação ao efeito de compostos isolados, devido à possível ocorrência de efeitos sinérgicos ou antagônicos. Além disso, um certo químico pode exercer efeitos distintos nos diferentes microrganismos presentes nas unidades de tratamento de efluente (LÓPEZ-FIUZA et al., 2002; MÖSCHE e MEYER, 2002).

O efeito de determinada substância tóxica ou determinada mistura no processo de digestão anaeróbia normalmente é avaliado por medidas de atividade do lodo anaeróbio, que podem ser consideradas de duas formas: uma medida global, que fornece informações sobre a atividade total de degradação, e uma medida da atividade de cada estágio básico do processo (SOTO et al., 1993).

Na maioria dos ensaios de toxicidade a atividade do lodo anaeróbio é quantificada pela atividade metanogênica, visto que uma eficiência satisfatória do tratamento anaeróbio só é alcançada após a conclusão dessa etapa que frequentemente é considerada a fase mais crítica do processo. LÓPEZ-FIUZA et al. (2002) avaliaram o efeito tóxico de uma mistura de substâncias químicas utilizadas nas análises de controle de qualidade do leite cru sobre lodo anaeróbio pela determinação da atividade metanogênica. Para avaliar a toxicidade de produtos comerciais empregados nos procedimentos de limpeza de indústrias de bebidas em uma estação de tratamento anaeróbio de efluentes, NAGEL et al. (1999) também utilizaram ensaios de atividade metanogênica. Alguns estudos determinam a atividade individual de outras fases do processo, possibilitando detecção de situações de desequilíbrio e determinação da relevância das diferentes etapas do processo de digestão. GAVALA e AHRING (2002), por exemplo, estudaram o efeito inibitório de alquilbenzeno sulfonatos nas fases acetogênica e metanogênica da digestão anaeróbia enquanto LIN (1992) investigou o

efeito de metais pesados como cromo, níquel, zinco, cobre, chumbo e cádmio na degradação de ácidos orgânicos durante o processo de digestão anaeróbia. Estudos envolvendo a possibilidade de tratamento de determinados efluentes por digestão anaeróbia utilizam ainda como medida de atividade global do sistema, o acompanhamento da Demanda Química de Oxigênio (DQO) como MENSAH e FORSTER (2003) e ERGÜDER, GÜVEN E DEMIRER (2003) ou Carbono Orgânico Total (COT) como FEITKENHAUER e MEYER (2002a), FEITKENHAUER e MEYER (2002b) e FEITKENHAUER (2003).

Os ensaios de toxicidade normalmente são realizados por testes em batelada e podem ser desenvolvidos utilizando-se como inóculo culturas puras ou consórcio de microrganismos. A vantagem do emprego de consórcio de microrganismos reside na relevância dos resultados para configuração e operação dos reatores, visto que culturas mistas representam melhor as populações microbianas presentes nos reatores (LÓPEZ-FIUZA et al., 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia e Processos Fermentativos do Departamento de Tecnologia de Alimentos – DTA, da Universidade Federal de Viçosa – UFV.

3.1. Formulação do meio sintético

Visando evitar o efeito de agentes químicos naturalmente presentes nos efluentes industriais, os experimentos foram conduzidos utilizando-se meio sintético. Para pesquisas envolvendo efluentes de indústrias de alimentos, que normalmente são muito variáveis em sua composição, a utilização desse meio torna-se especialmente importante devido às menores variações de suas características físico-químicas e microbiológicas, o que facilita a padronização do efluente. Além disso, observa-se maior facilidade no preparo, armazenamento e manuseio do meio.

O QUADRO 8 apresenta a composição do meio empregado neste estudo. Um estudo preliminar foi realizado por OLMÍ et al. (2006), com a finalidade de observar a possibilidade de utilização do meio sintético como substituto a um efluente agroindustrial, neste caso efluente natural de suinocultura. Para tanto avaliou-se o desempenho de reatores UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) alimentados com efluente natural de suinocultura, considerado reator controle, e meio sintético, empregando-se dois níveis de cargas biológicas para cada meio (0,2 e 0,4 kg DQO.kg biomassa⁻¹.d⁻¹).

QUADRO 8 – Componentes do meio sintético.

Constituintes	Concentração (mg.L ⁻¹)
Peptona	800
Glicose	2720
Extrato de carne	560
Bicarbonato de sódio, NaHCO ₃	2500
Cloreto de cálcio, CaCl ₂ . 2H ₂ O	38
Sulfato de magnésio, MgSO ₄ .7H ₂ O	42
Cloreto de amônio, NH ₄ Cl	320
Sulfato ferroso, FeSO ₄	32
Fosfato de potássio monobásico, KH ₂ PO ₄	80
Sulfeto de sódio, Na ₂ S . 5H ₂ O	50
pH	7,8

Fonte: YU et al. (2001).

Para sua caracterização físico-química foram realizadas análises da Demanda Química de Oxigênio (DQO), pelo método colorimétrico e refluxo fechado, análise de sólidos totais (ST), totais voláteis (STV) e totais fixos (STF) e medida do pH, todas realizadas conforme metodologias descritas em Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998).

3.2. Preparo do inóculo

O lodo de semeadura utilizado foi proveniente do digestor anaeróbio estável, com aproximadamente dez anos de operação, integrante da unidade de tratamento de efluentes da Pif Paf Alimentos S/A, matadouro frigorífico de aves localizado na cidade de Visconde do Rio Branco/MG. O lodo, coletado da parte inferior do digestor, foi acondicionado em galão plástico e mantido à temperatura de aproximadamente 7 °C. No total, foram cerca de três meses de acondicionamento.

Para obtenção da suspensão de células utilizada como inóculo, o lodo foi submetido a uma etapa de lavagem das células. O procedimento adotado envolveu sua centrifugação (centrífuga Beckman J2-MC, rotor JA-14) a 3840 g por 15 minutos a 10 °C, com subsequente ressuspensão em água peptonada 0,1%, adicionada de sulfeto de sódio (Na₂S . 5H₂O) na concentração de 50 mg.L⁻¹ para garantir o meio redutor. O volume de água peptonada adicionado foi equivalente ao volume de sobrenadante

retirado. Para assegurar a remoção dos resíduos provenientes do reator de coleta, este procedimento foi repetido duas vezes. Em seguida, o precipitado foi ressuspensão em meio sintético constituindo-se, dessa forma, a suspensão de células utilizada como inóculo nos experimentos. Análises de sólidos totais, totais voláteis e totais fixos caracterizaram essa suspensão, realizadas conforme metodologia descrita em Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998), em triplicata.

3.3. Procedimento experimental

O desenvolvimento deste estudo foi dividido em três etapas: 1) adaptação do inóculo; 2) determinação da concentração inicial de células; 3) estudo do efeito dos agentes químicos na eficiência de remoção de DQO.

3.3.1. Adaptação do inóculo

Devido às diferenças de composição entre o efluente do sistema de origem do lodo e o meio sintético empregado no experimento, fez-se necessária uma fase de adaptação dos microrganismos. Nesta etapa empregou-se um processo semicontínuo baseado na taxa de remoção de DQO, com substituições do meio fermentado por meio fresco após o sistema ter alcançado 50% de remoção de matéria orgânica, até a obtenção de uma taxa de remoção da ordem de $0,2 \text{ g DQO.g STV}^{-1}.\text{d}^{-1}$. Segundo SHULER e KARGI (2002), esse valor corresponde à taxa típica de remoção de DQO para digestão anaeróbia.

Para adaptação do inóculo, utilizou-se como reator um erlenmeyer com volume total de 560 mL, vedado com tampão de borracha. O volume de trabalho foi constituído de 500 mL da suspensão de células, o headspace foi purgado com gás nitrogênio (White Martins 5.0 analítico) e o reator incubado em banho-maria (Gyrotory® Water Bath Shaker modelo G76D) a 35 °C e 100 rpm. Um tubo de vidro submerso na suspensão de células permitiu a coleta de amostras da mistura de reação, por meio de seringas hipodérmicas de vidro (B-D Yale™), em intervalos de tempo de aproximadamente 12 horas e volume aproximado de 4 mL.

A eficiência de remoção de matéria orgânica do sistema foi acompanhada por análises da Demanda Química de Oxigênio (DQO) solúvel, pelo método colorimétrico e refluxo fechado (APHA, 1998), e do pH da solução.

3.3.2. Determinação da concentração inicial de células

Para definição da concentração inicial de células do sistema foram avaliadas diferentes relações alimento/microrganismo (A/M) quanto à eficiência de remoção de DQO: 0,50; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 e 4,0 g DQO.g STV⁻¹. Empregou-se como volume final 160 mL da mistura de reação, composta de meio sintético e suspensão de células. O QUADRO 9 apresenta o volume de cada solução adicionada ao reator para obtenção das relações A/M desejadas.

QUADRO 9 – Volumes de suspensão de células e meio sintético adicionados ao reator para obtenção da relação alimento/ microrganismo (A/M) correspondente.

Relação A/M (gDQO.gSTV⁻¹)	Volume de suspensão de células (mL)	Volume de meio sintético (mL)
0,5	60,0	100,0
1,0	37,0	123,0
1,5	27,0	133,0
2,0	21,0	139,0
3,0	14,7	145,3
4,0	11,3	148,7

Os fermentadores em escala de bancada empregados (FIG. 7) foram constituídos de garrafas de diluição de polipropileno Nalgene (Nalge Company, USA) com volume total de 215 mL. As tampas dos reatores foram perfuradas para a introdução de dois tubos de vidro: um de aproximadamente 14 cm de comprimento que permitiu a coleta de amostras da mistura de reação; e um segundo tubo, de aproximadamente 7 cm de comprimento, para liberação do biogás produzido no reator. Os tubos foram firmemente conectados a mangueiras de borracha Masterflex 25 mm, sendo a saída para coleta de amostras vedada, enquanto a saída do biogás foi acoplada a um balão de borracha com a finalidade de aliviar a pressão no interior do reator. Quando necessário os balões foram substituídos cuidadosamente, evitando-se a entrada de gases. O volume de biogás produzido não foi medido neste experimento.

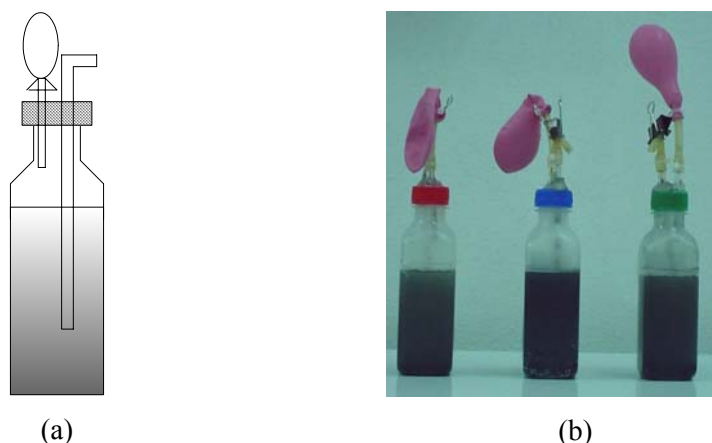


FIGURA 7 – Representação esquemática (a) e fotográfica (b) dos fermentadores empregados. Na FIGURA 7b distingue-se os diferentes estágios da produção de biogás.

Após a adição dos volumes previamente definidos, os reatores foram vedados, purgados com nitrogênio (White Martins 5.0 analítico) e incubados em banho-maria (Gyrotory® Water Bath Shaker modelo G76D) a 35 °C, sob agitação de 100 rpm. O pH inicial da mistura de reação (8,3) não foi ajustado em virtude das possíveis reações da substância adicionada para correção do parâmetro com os agentes químicos avaliados na etapa seguinte.

O acompanhamento dos sistemas foi realizado coletando-se amostras de 4 mL, por meio de seringas hipodérmicas de vidro (B-D Yale™), em intervalos de tempo variando de 6 a 12 horas, avaliando-se a DQO solúvel, pelo método colorimétrico e refluxo fechado (APHA, 1998), e monitorando-se o pH da solução (APHA, 1998).

3.3.3. Estudo do efeito de agentes químicos na eficiência de remoção de DQO

Neste estudo avaliou-se o efeito dos agentes químicos na eficiência de remoção de matéria orgânica do sistema, ou seja, a alteração provocada por essas substâncias na eficiência global do tratamento anaeróbio de efluentes.

Os agentes químicos avaliados (QUADRO 10) foram selecionados segundo sua aplicação nos procedimentos de higienização na indústria de alimentos. Representantes de cada classe de agentes detergentes (alcalinos, ácidos, tensoativos e complexantes) foram avaliados isoladamente e, na forma combinada, por meio de duas formulações: detergente básico e detergente ácido. A avaliação das formulações justifica-se visto que normalmente faz-se necessária a utilização de uma mistura de substâncias químicas para obtenção de um efeito de higienização satisfatório.

Os efeitos resultantes da adição de agentes alcalinos e agentes ácidos dificilmente são observados na prática pois geralmente são empregadas etapas de neutralização do efluente, ou seja, o pH do efluente é ajustado antes de sua introdução no sistema de tratamento biológico. Apesar disso, decidiu-se avaliar o efeito desses agentes químicos neste estudo devido à possibilidade de ocorrência de eventuais desajustes na etapa de neutralização.

Além disso, foram avaliados dois sanitizantes químicos isoladamente e combinações desses sanitizantes com as formulações de detergente, considerando-se que essas substâncias são juntamente conduzidas às unidades de tratamento de efluentes após as operações de enxágüe e que algumas indústrias optam pela utilização de detergentes sanitizantes em seus procedimentos de higienização, que são combinações de ingredientes compatíveis e complementares contendo um detergente e um desinfetante, permitindo a realização das etapas de limpeza e sanificação em uma única operação (HAYES, 1995).

As concentrações testadas (QUADROS 10 e 11) foram definidas com base na concentração comumente empregada nos procedimentos de higienização para cada agente químico (QUADRO 7). Visto que normalmente a concentração utilizada é diluída pela água de enxágüe, para definição das concentrações de trabalho foram considerados os seguintes fatores de diluição: 2, 10 e 50.

Assim, definiu-se um total de 14 tratamentos avaliando-se três concentrações para cada um deles. Foram realizadas duas repetições, distribuindo-se os tratamentos aleatoriamente em seis bateladas, sendo em cada uma delas avaliados cinco tratamentos, além de um reator controle sem adição de qualquer agente químico.

Os agentes químicos avaliados neste estudo foram adicionados na forma de soluções concentradas das quais determinou-se o pH e, quando necessário, o teor de matéria orgânica. As características dessas soluções são apresentadas no QUADRO 12.

QUADRO 10 – Agentes químicos e concentrações avaliadas no presente estudo.

Agente Químico	Classificação	Concentrações
Hidróxido de sódio (NaOH)	Agente alcalino	0,02; 0,1; 0,5%
Ácido nítrico (HNO ₃)	Agente ácido	0,01; 0,05; 0,25%
Dodecil sulfato de sódio	Tensoativo aniônico	30; 150; 750 mg.L ⁻¹
Tween 80	Tensoativo não-iônico	0,6; 3; 15 mg.L ⁻¹
Hexametáfosfato de sódio (NaPO ₃) ₆	Complexante inorgânico	60; 300; 1500 mg.L ⁻¹
EDTA	Complexante orgânico	10; 50; 250 mg.L ⁻¹
Formulação 1 – 95% NaOH 4,5% EDTA 0,5% Dodecil	Detergente básico	0,02; 0,1; 0,5%
Formulação 2 – 68,7% H ₂ O 31,0% HNO ₃ 0,3% Tween 80	Detergente ácido	0,02; 0,1; 0,5%
Hipoclorito de sódio (NaClO)	Sanitizante	2; 10; 50 mg.L ⁻¹ CRT*
Ácido peracético (CH ₃ CO ₃ H)	Sanitizante	2,4; 12; 60 mg.L ⁻¹

* CRT – Cloro Residual Total.

QUADRO 11 – Concentrações, no interior do reator, avaliadas no estudo das combinações de detergentes e sanitizantes.

Tratamentos	Detergente	Hipoclorito de sódio	Ácido peracético
Detergente básico e Hipoclorito de sódio	0,02%	2 mg.L ⁻¹ CRT	-
	0,10%	10 mg.L ⁻¹ CRT	
	0,50%	50 mg.L ⁻¹ CRT	
Detergente básico e Ácido peracético	0,02%	-	2,4 mg.L ⁻¹
	0,10%		12 mg.L ⁻¹
	0,50%		60 mg.L ⁻¹
Detergente ácido e Hipoclorito de sódio	0,02%	2 mg.L ⁻¹ CRT	-
	0,10%	10 mg.L ⁻¹ CRT	
	0,50%	50 mg.L ⁻¹ CRT	
Detergente ácido e Ácido peracético	0,02%	-	2,4 mg.L ⁻¹
	0,10%		12 mg.L ⁻¹
	0,50%		60 mg.L ⁻¹

QUADRO 12 – Características das soluções originais dos diferentes agentes químicos avaliados neste estudo¹.

Agente Químico	Concentração	pH	DQO (g.L ⁻¹)
Hidróxido de sódio	20,0%	12,6	-
Ácido nítrico	10,0%	0,1	-
Dodecilsulfato de sódio ²	0,15%	6,9	2,770 (0,024)
Tween 80	0,6%	6,3	9,100 (0,236)
Hexametáfosfato de sódio	6,0%	5,5	-
EDTA	1,0%	5,2	6,100 (0,236)
Detergente básico	19% NaOH 0,9% EDTA 0,1% Dodecil	12,3	0,329 (0,004)
Detergente ácido	31,0% HNO ₃ 0,3% Tween 80	nd	0,060 (0,007)
Hipoclorito de sódio	208,7 mg.L ⁻¹ CRT ³	8,9	-
Ácido peracético	2150 mg.L ⁻¹ ⁴	2,5	2,670 (0,707)
Detergente básico e Hipoclorito de sódio ⁵	1% detergente básico 100 mg.L ⁻¹ CRT	12,5	0,410 (0,002)
Detergente básico e Ácido peracético ⁵	1% detergente básico 120 mg.L ⁻¹ ácido peracético	12,6	1,850 (0,118)
Detergente ácido e Hipoclorito de sódio ⁵	1% detergente ácido 100 mg.L ⁻¹ CRT	1,7	0,052 (0,004)
Detergente ácido e Ácido peracético ⁵	1% detergente ácido 120 mg.L ⁻¹ ácido peracético	1,7	1,487 (0,047)

¹ Os valores apresentados são médias das soluções preparadas para as repetições.

² O dodecilsulfato de sódio não foi adicionado na forma de solução. Massas do reagente analítico (99% de pureza) foram adicionadas diretamente ao reator para obtenção da concentração desejada. Os valores apresentados correspondem a uma solução preparada especialmente para análise de pH e DQO.

³ A concentração da solução de hipoclorito, preparada a partir de um produto comercial com aproximadamente 10% cloro ativo, foi determinada pelo teste iodométrico (ANDRADE e MACÊDO, 1994).

⁴ Os princípios ativos da solução comercial utilizada para preparação da solução acima foram determinados por iodometria e permanganometria (ANDRADE e MACÊDO, 1994), encontrando-se 4,3% ácido peracético e 6,6% peróxido de hidrogênio.

⁵ Para avaliação dos agentes químicos na forma combinada foram adicionadas as soluções isoladas apresentadas. Os valores para as combinações apresentados correspondem a soluções preparadas especialmente para análise de DQO e pH, nas concentrações normalmente utilizadas nos procedimentos de higienização de indústrias de alimentos.

nd Não detectável; - Não foi realizada análise de DQO de substâncias inorgânicas.

O procedimento adotado nesta etapa foi semelhante ao descrito no item 3.3.2, diferindo-se apenas com relação à composição da mistura de reação que, além da presença do meio sintético e da suspensão de células na concentração definida no item anterior, adicionou-se também diferentes concentrações dos agentes químicos avaliados conforme demonstrado nos QUADROS 10 e 11.

O acompanhamento deste experimento também foi realizado por meio de análises de DQO solúvel e pH da mistura de reação, em intervalos de tempo variando de 6 a 12 horas, durante um total de aproximadamente 120 horas. Análises microscópicas a cada 24 horas permitiram observar alterações na estrutura dos grânulos do lodo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização do meio sintético

Os resultados do estudo preliminar descrito demonstraram que o meio sintético apresentou um comportamento bastante similar ao controle (FIG. 8), observando-se que os reatores alcançaram o regime permanente após aproximadamente 45 dias de operação. A similaridade no comportamento, tanto em relação à remoção de matéria orgânica, quanto à estabilidade do sistema, justifica a utilização do meio sintético como modelo para avaliação de sistemas de tratamento de efluentes agroindustriais.

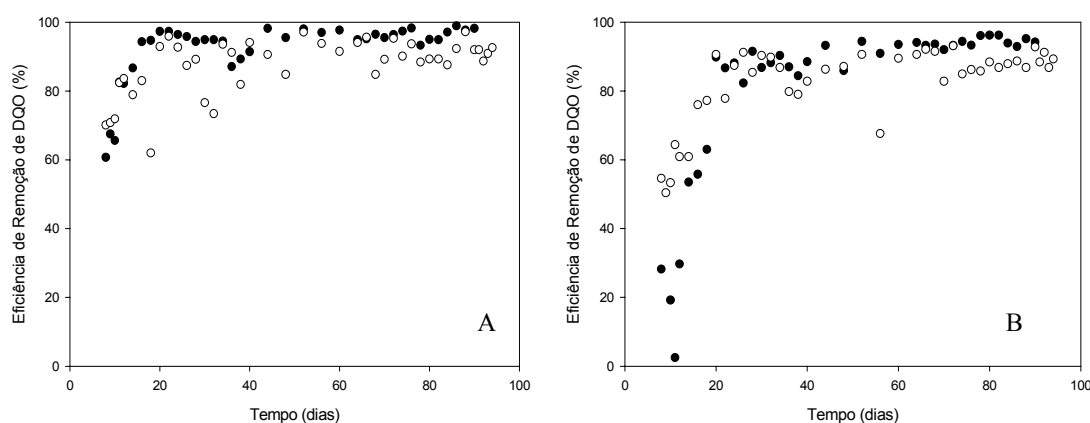


FIGURA 8 – Variação da eficiência de remoção de DQO. A - Carga biológica de 0,2 kg DQO.kg biomassa⁻¹.d⁻¹: (○) Efluente natural, (●) Meio sintético; B - Carga biológica de 0,4 kg DQO. Kg biomassa⁻¹.d⁻¹: (○) Efluente natural, (●) Meio sintético.

As características físico-químicas do meio sintético empregado neste estudo são apresentadas no QUADRO 13.

QUADRO 13 – Características do meio sintético¹.

Parâmetros	Meio sintético
DQO (g.L ⁻¹)	4,41 (0,11)
pH	7,8 (0,02)
Sólidos Totais - ST (g.L ⁻¹)	12,81 (1,36)
Sólidos Totais Voláteis - STV (g.L ⁻¹)	9,92 (0,71)
Sólidos Totais Fixos - STF (g.L ⁻¹)	2,89 (0,65)

¹ Valores médios (desvio-padrão) de triplicatas.

4.2. Caracterização do inóculo

O QUADRO 14 apresenta a caracterização de amostras do lodo de semeadura antes (lodo bruto) e após o procedimento de lavagem das células (lodo lavado).

QUADRO 14 – Características do lodo anaeróbio antes e após a etapa de lavagem das células¹

Parâmetros	Lodo bruto	Lodo lavado
Sólidos Totais - ST (g.L ⁻¹)	22,67 (0,45)	27,60 (0,80)
Sólidos Totais Voláteis - STV (g.L ⁻¹)	11,87 (0,51)	14,50 (0,97)
Sólidos Totais Fixos - STF (g.L ⁻¹)	10,80 (0,06)	13,11 (0,19)

¹ Valores médios (desvio-padrão) de triplicatas.

O aumento de valores observado em todas as frações de sólidos após a lavagem das células deve-se à substituição do líquido proveniente do reator de coleta por meio sintético fresco, o qual apresenta em sua composição alto teor de matéria orgânica, responsável pelo aumento de STV, e minerais responsáveis pelo aumento de STF.

4.3. Procedimento experimental

4.3.1. Adaptação do inóculo

A remoção de DQO e variação de pH observados nesta primeira etapa são apresentados na FIG. 9.

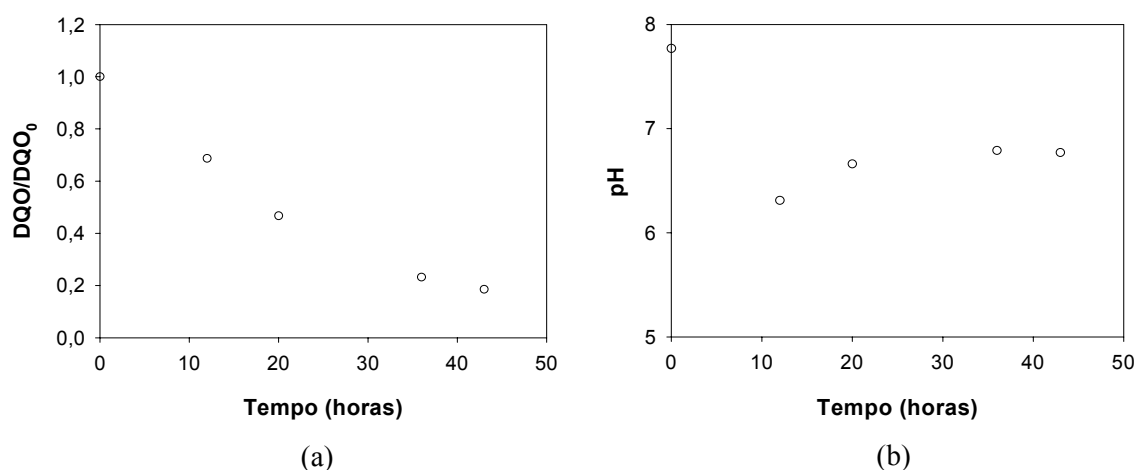


FIGURA 9 – Variação da DQO (a) e pH (b) do sistema na fase de adaptação do lodo anaeróbio ao meio sintético.

Observa-se que após 20 horas de operação do primeiro ciclo, o sistema em questão alcançou cerca de 50% de remoção de DQO. Assim, conforme o processo semicontínuo estabelecido no item 3.3.1, tornaram-se desnecessárias substituições subsequentes do meio fermentado por meio fresco, uma vez que atingiu-se uma taxa de remoção de DQO de $0,71 \text{ g DQO.g STV}^{-1}.\text{d}^{-1}$ superior ao valor desejado de $0,2 \text{ g DQO.g STV}^{-1}.\text{d}^{-1}$. Conseqüentemente, etapas de ativação do lodo precedentes a cada batelada foram dispensadas.

A elevada taxa de remoção apresentada por este sistema deve-se à baixa relação A/M ($0,13 \text{ g DQO.g STV}^{-1}$) empregada sendo, portanto, o material biodegradável rapidamente oxidado pelo elevado número de microrganismos presentes. Além disso, a glicose, fonte de carbono e energia predominante no meio sintético, é um açúcar prontamente assimilável pela microbiota.

4.3.2. Determinação da concentração inicial de células

A FIG. 10 apresenta a variação de DQO e pH do sistema para as diferentes relações A/M avaliadas. A remoção de DQO é apresentada com base na relação DQO/DQO_0 , onde DQO_0 corresponde ao valor deste parâmetro no interior do reator no início do processo e DQO, seu valor em um tempo t qualquer.

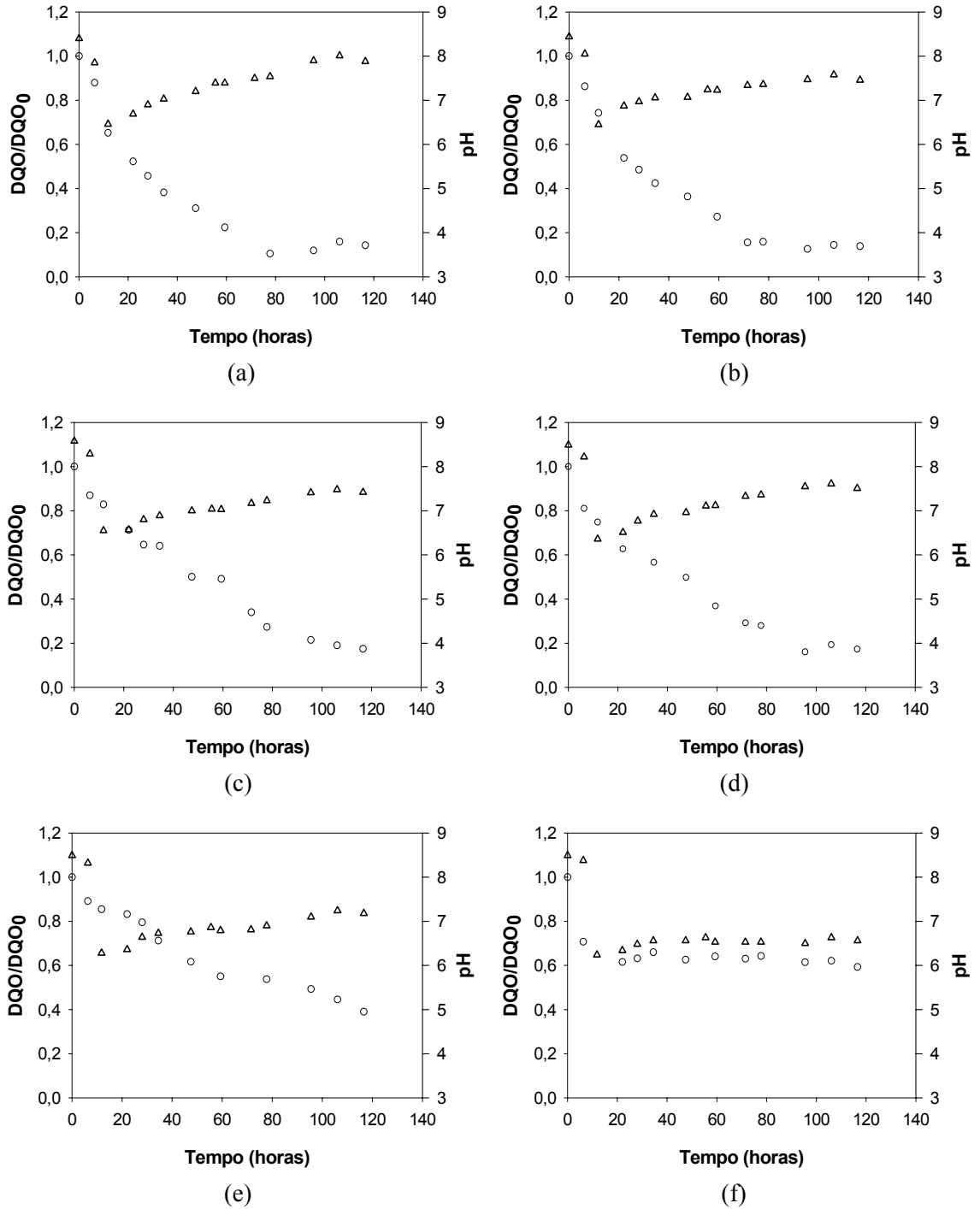


FIGURA 10 - Variação de DQO (○) e pH (Δ) para as diferentes relações A/M testadas: (a) 0,50; (b) 1,0; (c) 1,5; (d) 2,0; (e) 3,0 e (f) 4,0 g DQO.g STV⁻¹.

Os reatores correspondentes às relações A/M de 0,5 e 1,0 g DQO.g STV⁻¹ (FIG. 10a e 10b) atingiram, ao término da batelada, eficiências de remoção de DQO próximas e equivalentes a 85,7 e 86,1%, respectivamente. Para as relações 1,5 e 2,0 g DQO.g STV⁻¹ (FIG. 10c e 10d) o sistema alcançou, ao final da batelada, eficiências de remoção de DQO de 82,6% e 82,7%, respectivamente. O comportamento do pH não apresentou grandes variações entre os sistemas mencionados, distinguindo-se claramente uma queda acentuada nas 12 horas iniciais de operação, decorrente da produção de ácidos orgânicos, seguida de uma lenta e pequena elevação do pH, resultante da dessorção de CO₂ pela produção de biogás e remoção do ácido acético pela metanogênese (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

Para a relação 3,0 g DQO.g STV⁻¹ (FIG. 10e) observa-se uma redução da eficiência de remoção de DQO após 120 horas de operação do sistema, que atingiu apenas 61%. A maior relação A/M avaliada (FIG. 10f) apresentou um comportamento característico de sistemas submetidos a altas cargas orgânicas, quando a taxa de remoção de ácidos voláteis por meio da metanogênese não acompanha a taxa de produção dos mesmos, resultando em um acúmulo desses ácidos no meio e subsequente diminuição do pH, que pode exercer um efeito inibitório sobre os microrganismos metanogênicos (COHEN et al., 1982; HEDRICK et al., 1991; RAJESHWARI et al., 2000; SHULER e KARGI, 2002). No sistema em questão apenas 40,7% da matéria orgânica foi completamente oxidada ao final da batelada, sendo esse consumo observado nas 20 horas iniciais de operação, o que coincidiu com o período de redução de pH do sistema resultante da fase acidogênica do processo.

O estabelecimento da relação A/M para continuidade do trabalho baseou-se na eficiência de remoção de DQO atingida pelo sistema, ao término da batelada. Deste modo, a relação alimento/microrganismo assumida nas demais etapas do procedimento foi 2 g DQO.g STV⁻¹, utilizando-se desta forma para obtenção de uma boa eficiência de remoção de DQO, um menor volume de inóculo na composição da mistura de reação. Definiu-se também nesta etapa o tempo total de operação da batelada como 120 horas.

A relação alimento/microrganismo definida para este estudo, 2 g DQO.g STV⁻¹, encontra-se na faixa de valores normalmente estabelecida para avaliação da atividade metanogênica específica (AME), ou seja, valores correspondentes à atividade máxima deste grupo microbiano, geralmente responsável pela etapa limitante do processo.

Devido a variações na natureza do substrato, do inóculo e mesmo alterações de metodologia, os dados encontrados na literatura sugerem uma faixa de valores para avaliação da AME entre 0,5 e 2,5 g DQO.g SSV⁻¹ (VALCKE e VERSTRAETE, 1983; JAMES, CHERNICHARO e CAMPOS, 1990; CHERNICHARO, 1997; MONTEGGIA, 1997; JAWED e TARE, 1999; LÓPEZ-FIUZA et al., 2002). A relação definida no presente trabalho encontra-se também na faixa estabelecida para ensaios de toxicidade segundo FEIJOO et al. (1995), FANG e CHAN (1997) e ERGÜDER, GÜVEN e DENIRER (2003), variando de 1 a 2,5 g DQO.g SSV⁻¹.

4.3.3. Estudo do efeito de agentes químicos na eficiência de remoção de DQO

Neste estudo o efeito inibitório e, ou tóxico dos agentes químicos estudados foi avaliado com base na redução da eficiência de remoção de DQO do sistema, comparado a um sistema controle sem a adição de qualquer agente químico.

O efeito dos diferentes agentes químicos avaliados na eficiência de remoção de DQO do sistema, após 120 horas de operação, encontra-se representado na FIG. 11. As substâncias são apresentadas na seguinte ordem: agentes detergentes isolados, formulações de detergentes, sanitizantes químicos isolados e combinações das formulações de detergentes e sanitizantes químicos. Uma vez que o desvio padrão obtido para o reator controle apresentou um valor muito baixo, 2,73%, definiu-se como parâmetro uma variação de 5% no valor médio da eficiência de remoção de DQO do sistema, após 120 horas de operação, obtida para o controle (75,5%). Considerou-se que sistemas com eficiência final de remoção de DQO entre 70,5 e 80,5% não tiveram sua eficiência alterada pela adição do agente químico avaliado. A seguir, encontram-se apresentados apenas os efeitos inibitórios mais relevantes, sendo os demais resultados apresentados no Apêndice.

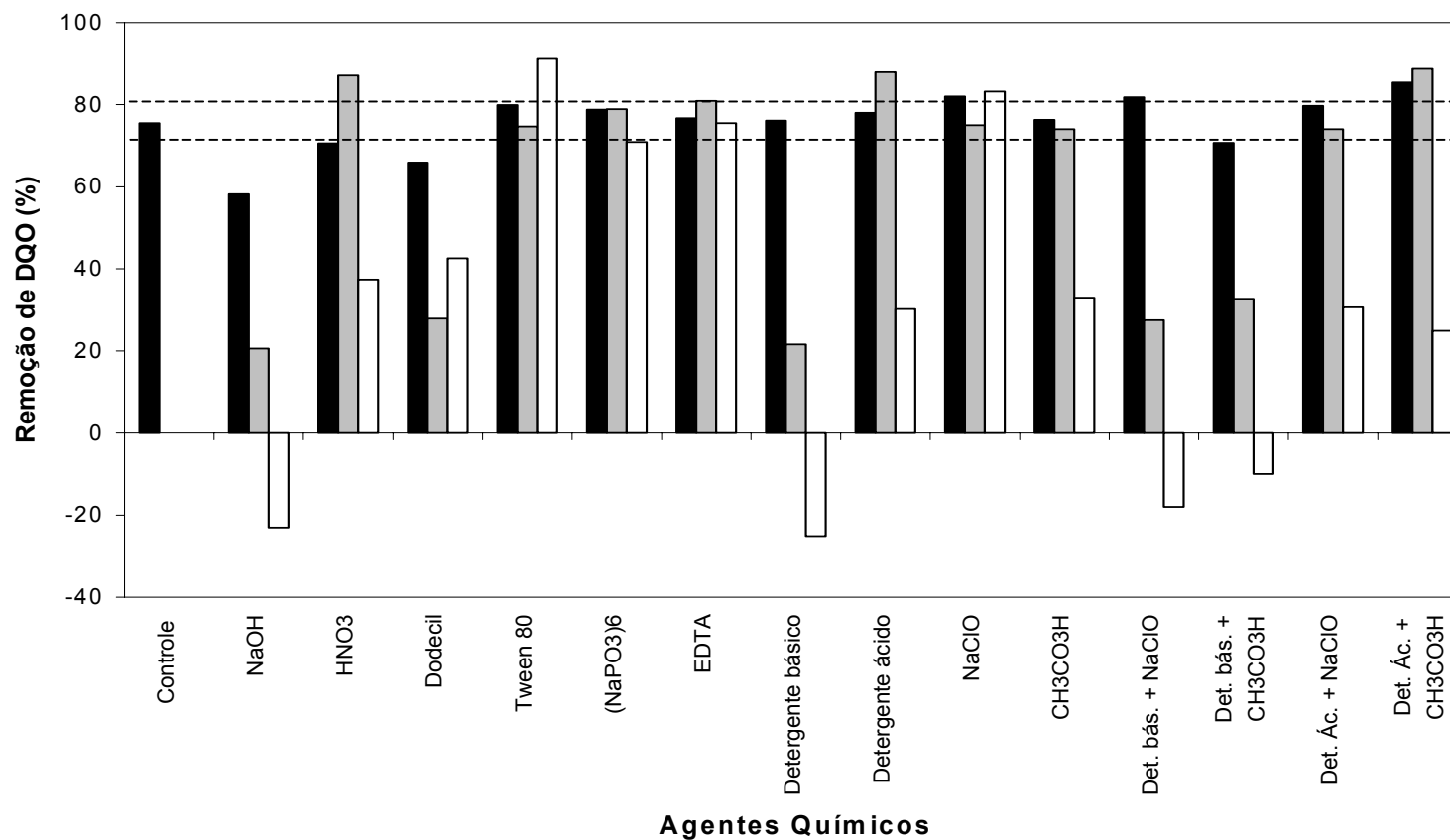


FIGURA 11 – Eficiências de remoção de DQO, após 120 horas de operação do sistema, para os diferentes agentes químicos e combinações avaliadas. As três colunas visualizadas para cada agente correspondem às concentrações testadas (QUADROS 10 e 11): ■ menor concentração; ■ concentração intermediária e □ maior concentração. A eficiência de remoção apresentada corresponde à média de duas repetições e valores negativos representam aumento na DQO solúvel do sistema. As linhas tracejadas correspondem à variação de 5% do valor do controle.

Para efeito de comparação, inicialmente serão apresentados e discutidos os resultados obtidos para o reator controle (FIG. 12). A taxa de remoção de DQO atingiu $21,3 \text{ mg DQO.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, alcançando ao final da batelada uma eficiência de remoção 75,5%. Quanto à variação do pH, destaca-se a queda acentuada nas 11 horas iniciais da batelada, reflexo da atividade acidogênica, seguida do lento aumento a valores próximos à neutralidade decorrente da dessorção de CO_2 e consumo de ácido acético na fase metanogênica.

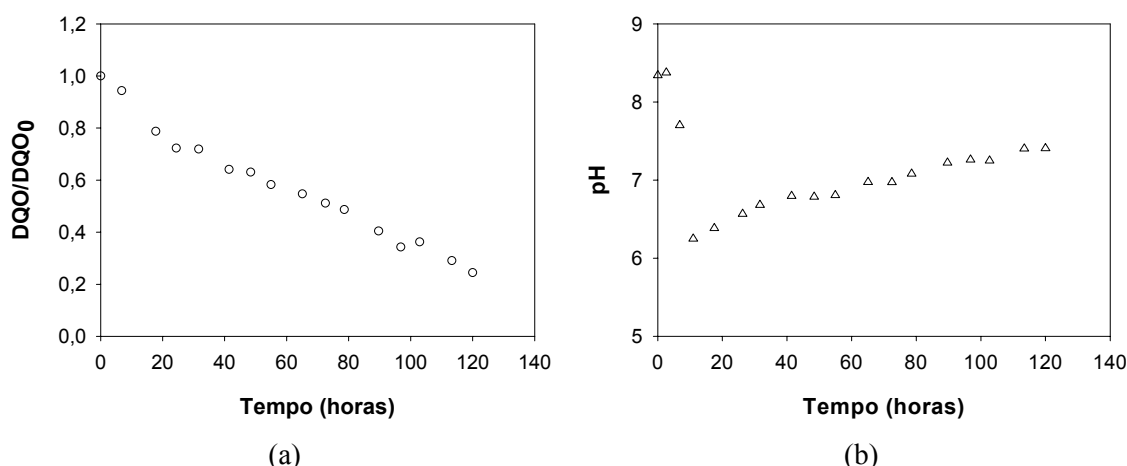


FIGURA 12 – Variação da DQO (a) e pH (b) no reator controle. Os valores correspondem à média de seis repetições.

4.3.3.1. Avaliação do efeito individual de agentes detergentes na eficiência de remoção de DQO

Conforme apresentado na FIG. 11, os agentes hexametáfosfato de sódio e EDTA não apresentaram efeito inibitório sobre o sistema, em nenhuma das concentrações avaliadas.

Pode-se afirmar, portanto, que concentrações inferiores a 1500 mg.L^{-1} de hexametáfosfato de sódio não afetam consideravelmente a eficiência de remoção de DQO do sistema anaeróbico em questão. Segundo KHALIL et al. (1988), concentrações até 100 mg.L^{-1} de outro polifosfato, o tripolifosfato de sódio, também não apresentaram efeito inibitório na produção de biogás, a partir de meio sintético rico em glicose.

O efeito do EDTA está diretamente relacionado à sua concentração em solução. Sabe-se que, em baixas concentrações, agentes quelantes são utilizados para formação de compostos solúveis com íons presentes no meio nutriente que, caso contrário, se precipitam e tornam-se indisponíveis para as células (SHULER e KARGI, 2002).

Em concentrações elevadas o EDTA pode remover cátions componentes da parede celular de alguns microrganismos, causando desintegração dos grânulos (SCHMIDT e AHRING, 1996). No presente estudo pode-se afirmar que concentrações inferiores a 250 mg.L⁻¹ do complexante orgânico Na₂EDTA não resultaram em alterações no processo de digestão anaeróbia em questão.

A presença do surfactante não iônico Tween 80 nas concentrações 0,6 e 3 mg.L⁻¹ não alterou a eficiência final de remoção de DQO do sistema (FIG. 10). Contudo, a adição de 15 mg.L⁻¹ desse tensoativo resultou em um aumento na eficiência do sistema, que atingiu uma taxa média de remoção equivalente a 43,0 mg DQO.L⁻¹.h⁻¹, alcançando uma média de 91,4% de remoção de DQO ao término da batelada, conforme demonstrado na FIG. 13.

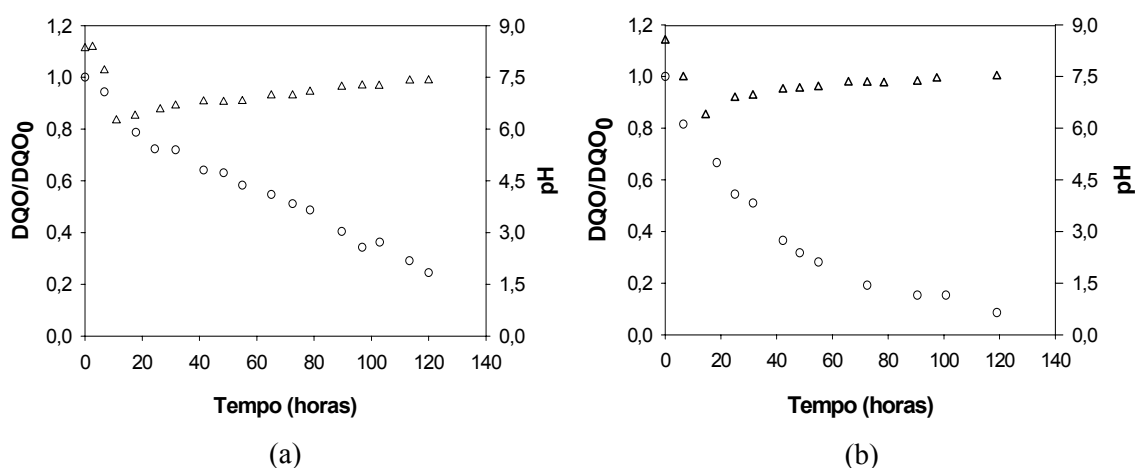


FIGURA 13 – Variação de DQO (○) e pH (Δ) no reator controle (a) e no sistema adicionado de 15 mg.L⁻¹ de Tween 80 (b). Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

As alterações observadas na estrutura dos grânulos (FIG. 14) possivelmente estão relacionadas à ligação do Tween 80 aos lipídeos da membrana celular, alterando diretamente as propriedades de superfície dos microrganismos, em especial a carga elétrica (LIU et al., 2003; MEZZANOTTE et al., 2003). Segundo SCHMIDT e AHRING (1996), as bactérias dispersas são carregadas negativamente existindo uma repulsão entre as células. A alteração da carga na superfície microbiana resulta em uma maior agregação, o que pode beneficiar a degradação de substratos e intermediários facilitando assim a troca de metabólitos entre os diferentes grupos microbianos responsáveis pela digestão anaeróbia (SCHMIDT e AHRING, 1996; LIU et al., 2003).

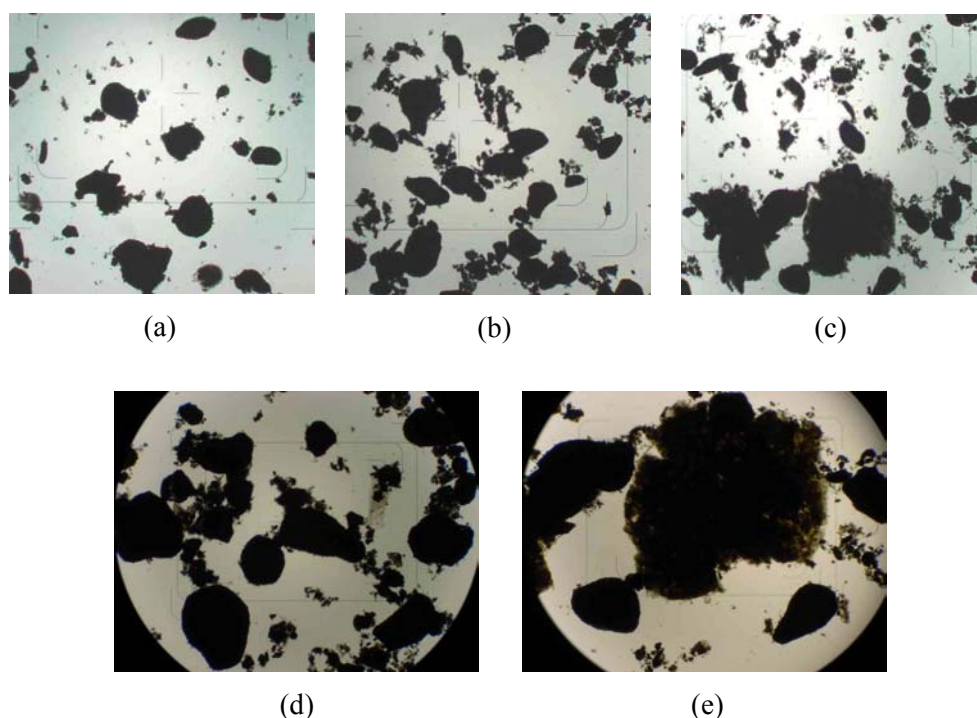


FIGURA 14 – Fotomicrografias (4x) dos grânulos presentes na mistura de reação contendo 15 mg.L^{-1} de Tween 80 em diferentes tempos de operação: (a) 0 hora; (b) 24 horas; (c) 120 horas; fotografias utilizando objetiva 10x mostram melhor a estrutura mais agregada nos tempos (d) 75 horas e (e) 120 horas.

Os tensoativos não iônicos também são efetivos na liberação de enzimas ligadas à célula, porém esse mecanismo de ação ainda não foi muito explorado em microrganismos anaeróbios conforme relatado em LEE et al. (2004). Seria interessante, portanto, avaliar o efeito deste tensoativo não iônico na fase hidrolítica da digestão anaeróbia que, dependendo da natureza do substrato, pode ser a etapa limitante de todo o processo.

Dentre os agentes químicos avaliados isoladamente, os efeitos inibitórios mais relevantes são atribuídos ao hidróxido de sódio, ácido nítrico e dodecil sulfato de sódio. A adição dessas substâncias resultou em alterações no sistema em todas as concentrações avaliadas.

A FIG. 15 apresenta as alterações no processo de digestão anaeróbia resultantes da adição de hidróxido de sódio ao sistema. O tratamento com 0,02% de hidróxido de sódio (FIG. 15b) apresentou uma eficiência de remoção de DQO de 58,2%, após 120 horas de operação do sistema.

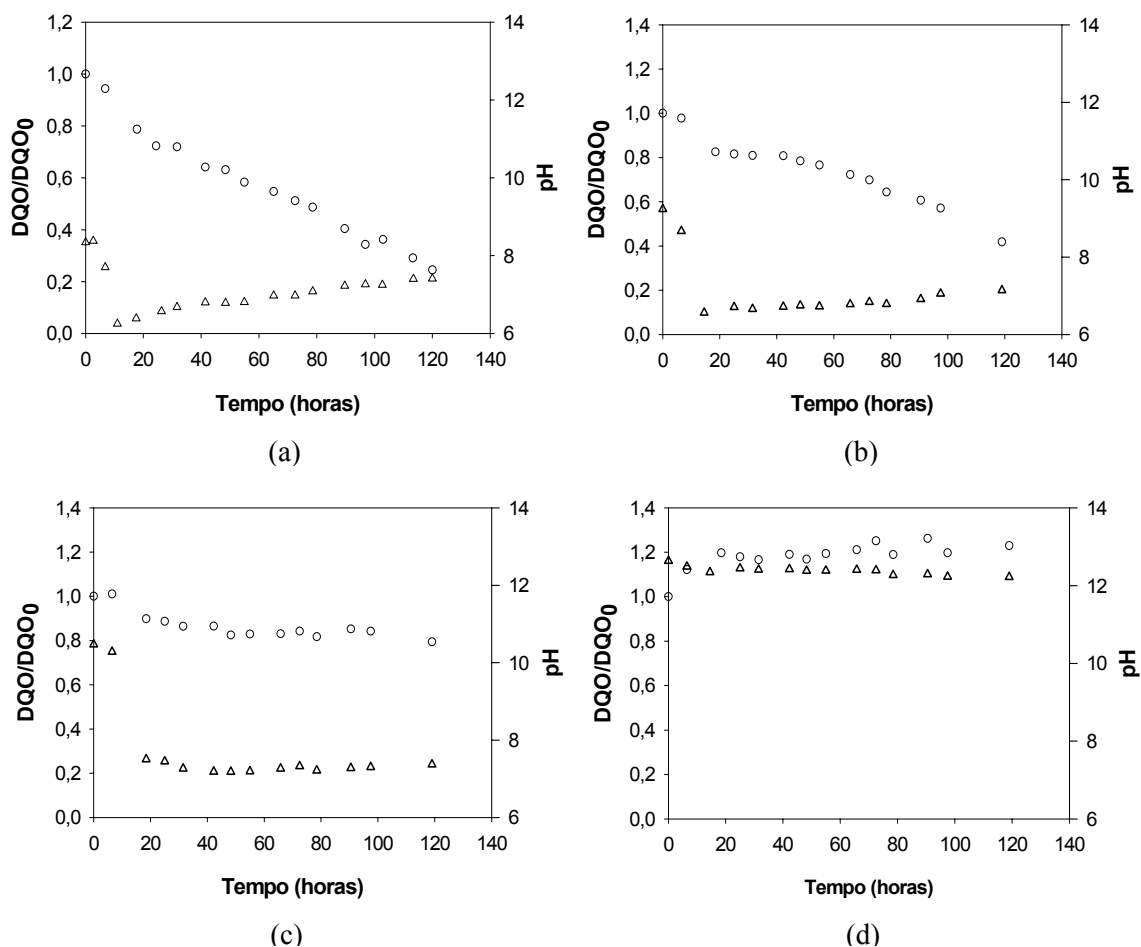


FIGURA 15 – Efeito de hidróxido de sódio na variação de DQO ($\circ$) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) Controle; (b) 0,02%; (c) 0,1% e (d) 0,5 % NaOH. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

Para a concentração de 0,1% de hidróxido de sódio (FIG. 15c) a eficiência de remoção de DQO ao final da batelada foi de aproximadamente 17%, sendo esse consumo observado nas primeiras 48 horas de operação. Apesar do elevado pH inicial do sistema, foi possível identificar a queda de pH decorrente da atividade acidogênica, observando-se em seguida uma estabilização no pH do sistema. Esse comportamento confirma a menor sensibilidade das bactérias fermentativas a alterações nos valores de pH do sistema, conforme descrevem ARCHER (1983), VAN HAANDEL e LETTINGA (1994) e GRADY, DAIGGER e LIM (1999). O efeito inibitório gerado pela adição de 0,1% hidróxido de sódio foi mais agressivo aos microrganismos, perturbando completamente o sistema no período de operação estudado.

A adição de 0,5% hidróxido de sódio (FIG. 15d) resultou em uma elevação de aproximadamente 20% da DQO solúvel, nas primeiras 20 horas de operação, permanecendo praticamente constante após este período. O aumento da DQO solúvel possivelmente está relacionado ao extravasamento de componentes celulares e, ou solubilização de material extracelular, fenômenos sugeridos pelas análises microscópicas dos grânulos do lodo anaeróbio (FIG. 16).

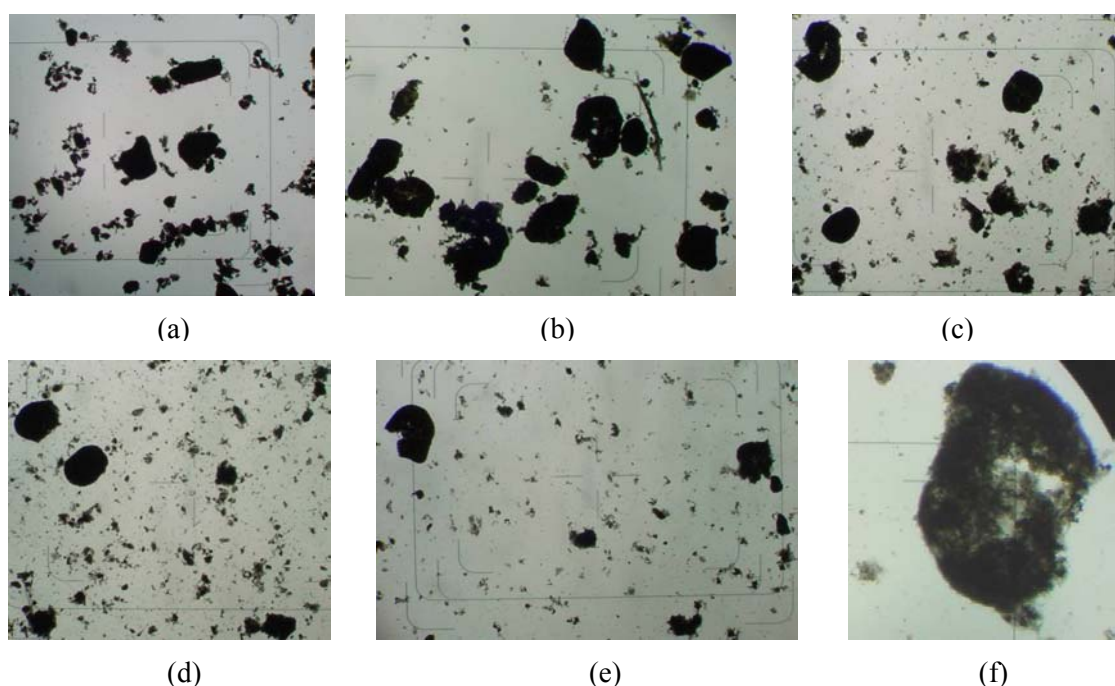


FIGURA 16 – Fotomicrografias (4x) dos grânulos presentes na mistura de reação inicial do controle (a) e na mistura contendo 0,5% de hidróxido de sódio em diferentes tempos de operação: (b) 6 horas; (c) 48 horas; (d) 96 horas e (e) 120 horas; (f) grânulo deteriorado observado na mistura contendo 0,5% NaOH após 120 horas de operação, utilizando objetiva 10x.

As alterações nas estruturas dos grânulos e células são atribuídas ao elevado pH inicial deste sistema, que se manteve constante no decorrer da batelada. Segundo FOSTER (1999), as proteínas periplasmáticas são intensamente danificadas quando submetidas a pH alcalino. A drástica alteração de pH desse tratamento interfere também nas forças atrativas e repulsivas como forças de Van der Waals e eletrostáticas envolvidas no processo de agregação das células e na densidade e distribuição de cargas elétricas na superfície das células que influenciam não só o processo de granulação como também a permeabilidade da membrana celular (SCHMIDT e AHRING, 1996; LIU et al., 2003).

Alterações na atividade metabólica das células e na solubilidade e disponibilidade de nutrientes também se encontram entre os danos resultantes de modificações no pH do sistema (BITTON, 1994).

Um fenômeno interessante foi observado no tratamento com 0,5% de hidróxido de sódio: ao término da batelada, o balão conectado ao reator e o próprio reator apresentaram-se comprimidos, possivelmente devido ao consumo de dióxido de carbono do headspace. Segundo GRADY, DAIGGER e LIM (1999), em altas concentrações de NaOH, o requerimento de CO₂ é superior à quantidade disponível, gerando uma pressão negativa no sistema.

O fenômeno de inibição observado no tratamento com 0,5% de hidróxido de sódio pode ser resultante, além das drásticas elevações de pH, do efeito tóxico atribuído a elevadas concentrações de sódio. No tratamento em questão a concentração de sódio alcançou 0,36%, considerando-se também os íons provenientes do bicarbonato de sódio presente no meio sintético. Segundo GRADY, DAIGGER e LIM (1999), concentrações de 0,35 a 0,55% de sódio inibem moderadamente o processo de digestão anaeróbia, enquanto a presença de 0,8% do cátion inibe severamente o sistema. FEIJOO et al. (1995) avaliaram o efeito de sódio na produção de metano, encontrando concentrações responsáveis por inibição de 50% da atividade metanogênica na faixa de 0,3 a 1,6 %. RINZEMA, VAN LIER e LETTINGA (1988) também estudaram o efeito de sódio na formação de metano, encontrando em pH neutro concentrações de 0,5; 1,0 e 1,4% de sódio responsáveis por inibições de 10, 50 e 100% de inibição da atividade metanogênica específica máxima. Para valores de pH próximos a 8,0, como ocorre para o sistema avaliado neste estudo, observou-se uma inibição mais pronunciada correspondente a 0,25; 0,75 e 1,2% de sódio para inibições de 10, 50 e 100%. Estudos avaliando o efeito de sódio em reatores com valores de pH próximos à neutralidade podem confirmar o real efeito do cátion sódio sobre o sistema empregado neste estudo.

O efeito do ácido nítrico na eficiência da digestão anaeróbia provavelmente também está associado às alterações geradas no pH da mistura de reação (FIG. 17).

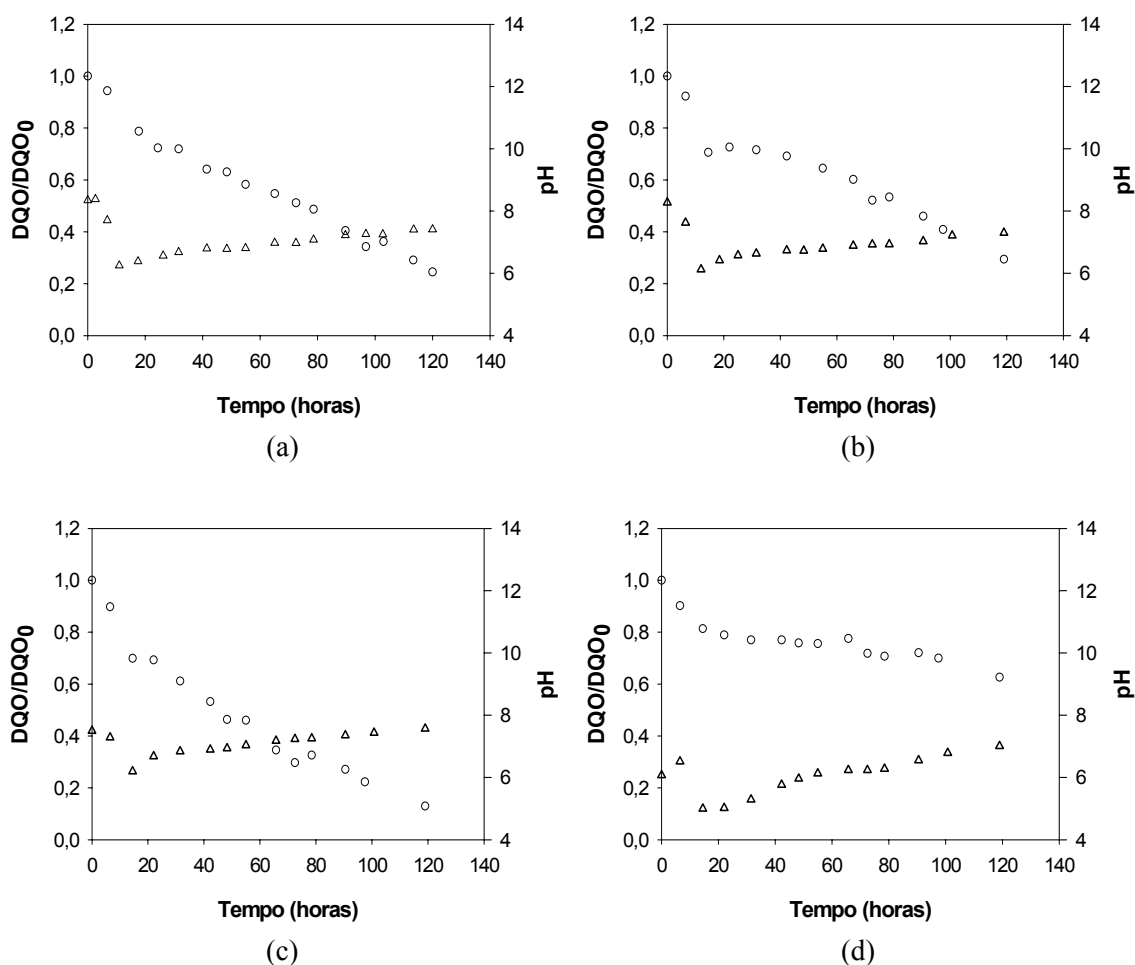


FIGURA 17 – Efeito de ácido nítrico na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbico em batelada: (a) Controle; (b) 0,01%; (c) 0,05% e (d) 0,25% HNO₃. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

A concentração de 0,01% de ácido nítrico no meio de reação (FIG. 17b) permitiu um consumo de aproximadamente 30% da DQO nas 15 horas iniciais, seguido por um período de 17 horas em que o teor de DQO manteve-se praticamente constante. Posteriormente, o consumo de DQO retornou a uma taxa de 17,3 mg DQO.L⁻¹.h⁻¹ atingindo-se, ao final da batelada, 70,6% de remoção de DQO. Assim, notou-se uma boa capacidade de adaptação da biomassa às alterações ambientais impostas por este tratamento.

Para a concentração de 0,05% de ácido nítrico (FIG. 17c) observa-se um aumento na taxa de remoção de DQO (29,4 mg DQO.L⁻¹.h⁻¹) em relação ao valor apresentado pelo controle (21,3 mg DQO.L⁻¹.h⁻¹), possivelmente devido à diminuição do pH inicial da mistura de reação. Visto que o efeito do pH na atividade das bactérias acidogênicas é menos relevante, sugere-se que o comportamento observado está

diretamente relacionado ao efeito do pH sobre os microrganismos metanogênicos. DE BEER et al. (1992) estudaram o efeito do perfil de pH em agregados metanogênicos sobre a cinética de conversão de acetato, concluindo que uma diminuição do pH do meio resulta em redução do pH no interior dos grânulos e concomitante diminuição do valor de K_s (constante de saturação de Monod) no local, conduzindo a uma maior atividade da biomassa.

A presença de 0,25% de ácido nítrico no meio de reação (FIG. 17d) resultou em um consumo de aproximadamente 20% da DQO nas 22 horas iniciais de operação, seguido por um período de remoção de DQO a baixa taxa ($4,8 \text{ mg DQO.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Ao término da batelada, o sistema atingiu uma eficiência de remoção de DQO de apenas 37,4%. Devido ao baixo valor inicial, a diminuição de pH decorrente da atividade acidogênica do sistema resultou em valores considerados extremamente baixos como 5,0, podendo justificar a baixa eficiência de remoção atingida, uma vez que a metanogênese diminui rapidamente quando o pH atinge valores inferiores a 6,0 (BITTON, 1994; VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

Outro agente detergente cuja utilização tem aumentado nas últimas décadas e que gerou efeitos consideráveis de inibição do sistema avaliado é o surfactante aniônico dodecil sulfato de sódio ou lauril sulfato de sódio, conforme observado na FIG. 18.

Após as 120 horas de operação, o sistema contendo 30 mg.L^{-1} de dodecil sulfato de sódio atingiu eficiência de 65,9% remoção de DQO. Mesmo não tendo sido alcançada a mesma eficiência de remoção do reator controle, esse comportamento demonstra a capacidade de adaptação dos microrganismos à concentração de surfactante empregada neste tratamento.

Para a concentração de 150 mg.L^{-1} observa-se uma inibição do sistema após aproximadamente 24 horas de operação, obtendo-se ao término da batelada uma remoção de aproximadamente 23% da DQO inicial. A curva de variação do pH deste sistema diferenciou-se do controle após 41 horas de operação, quando se observou uma estabilização do valor do pH. Esse comportamento pode indicar a maior sensibilidade das arqueobactérias metanogênicas à toxicidade do surfactante quando comparadas às bactérias acidogênicas, como afirma MÖSCHE e MEYER (2002).

A adição de 750 mg.L^{-1} do tensoativo provocou um comportamento semelhante ao descrito para a concentração de 150 mg.L^{-1} . Entretanto, a inibição do sistema foi observada somente após 41 horas de operação, sendo a remoção de DQO ao término da batelada correspondente a 40% do valor inicial.

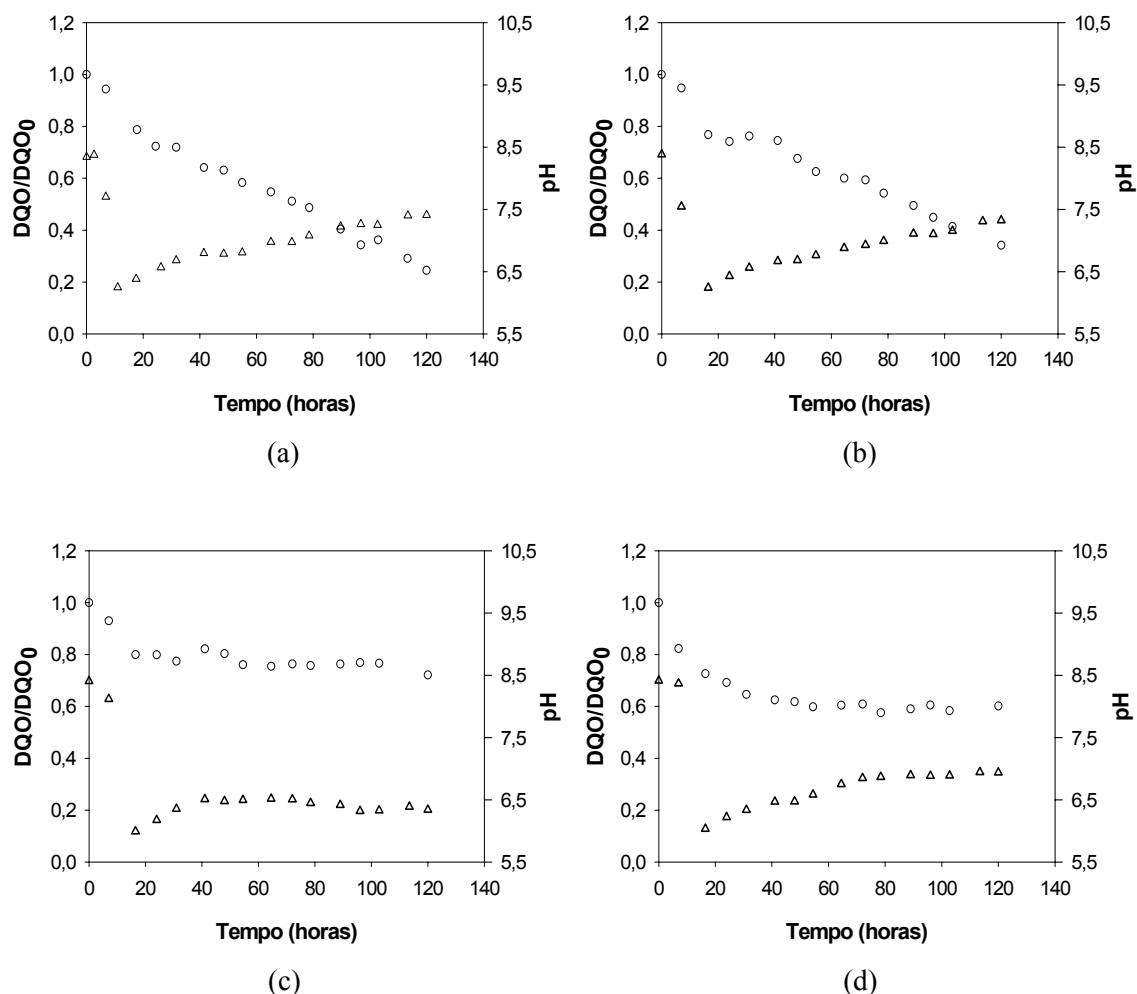


FIGURA 18 – Efeito de dodecil sulfato de sódio na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) Controle; (b) 30 mg.L⁻¹; (c) 150 mg.L⁻¹ e (d) 750 mg.L⁻¹. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

É importante ressaltar a diferença notada com relação ao valor inicial de DQO para a concentração de 750 mg.L⁻¹ do surfactante, quando se observou um aumento de 33,3% da DQO solúvel inicial do controle. Esse acréscimo está relacionado à natureza orgânica da substância, cujo teor de matéria orgânica corresponde a 1,85 g DQO.g⁻¹ dodecil, conforme apresentado no QUADRO 11. Considerando-se essa observação é importante salientar que, apesar dos tratamentos com 150 e 750 mg.L⁻¹ de dodecil apresentarem eficiências de remoção diferentes, 20 e 40% respectivamente, os valores absolutos do teor de DQO ao término da batelada podem ser considerados próximos, correspondentes a 2,53 e 2,83 g DQO.L⁻¹, respectivamente.

As bases moleculares da atividade biológica e toxicológica dos surfactantes aniônicos sobre o processo de digestão anaeróbia ainda não foram completamente elucidadas (CSERHÁTI, FORGÁCS e OROS, 2002). O mecanismo de ação mais provável está relacionado à ligação de surfactantes aniônicos a macromoléculas bioativas, mais especificamente fragmentos celulares como os fosfolipídeos de membrana, causando sua disfunção e gerando inibição da atividade microbiana por meio de perturbações do transporte de íons, absorção de nutrientes essenciais ou liberação de produtos metabólicos tóxicos à célula (JENSEN, 1999; WHITE, 2000; FEITKENHAUER e MEYER, 2002a). Segundo DYCHDALA e LOPES (1991), em concentrações mais elevadas os surfactantes aniônicos podem desagregar e até mesmo solubilizar componentes da membrana celular. As alterações observadas na estrutura dos grânulos submetidos à concentração de 750 mg.L^{-1} de dodecil sulfato de sódio são apresentadas na FIG. 19.

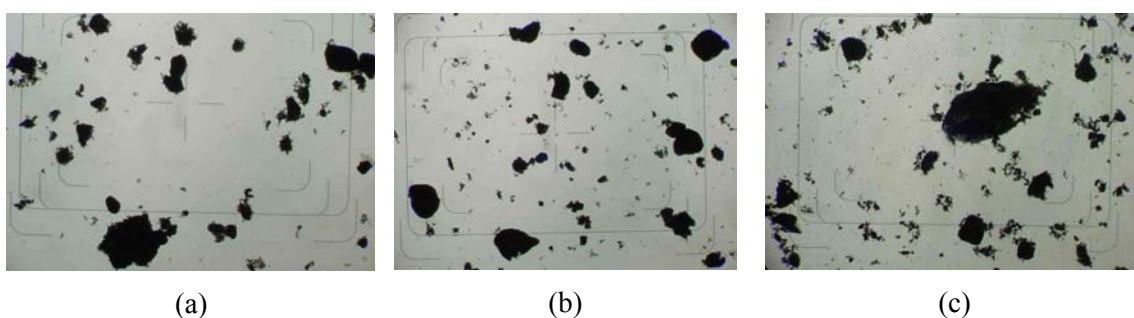


FIGURA 19 – Fotomicrografias (4x) dos grânulos presentes na mistura de reação contendo 750 mg.L^{-1} de dodecil sulfato de sódio em diferentes tempos de operação: (a) 0 hora; (b) 24 horas; (c) 120 horas.

Embora a biodegradabilidade de alguns surfactantes aniônicos sob condições anaeróbias tenha sido confirmada (FEITKENHAUER e MEYER, 2002b; FEITKENHAUER, 2003), também foi demonstrado que seus efeitos inibitórios podem persistir mesmo após sua degradação devido ao acúmulo de intermediários de elevada toxicidade, os ácidos orgânicos correspondentes, muitas vezes até mais tóxicos que as moléculas de origem (FEITKENHAUER, 2003; MEZZANOTTE et al., 2003).

4.3.3.2. Avaliação do efeito combinado de agentes detergentes na eficiência de remoção de DQO

Para obtenção de um efeito de higienização satisfatório, normalmente faz-se necessária a utilização de uma mistura de substâncias químicas. Neste estudo, foram avaliadas duas das formulações de detergentes comumente empregadas no processo de limpeza de indústrias de alimentos, sendo um detergente básico e um detergente ácido.

A influência do detergente básico no desenvolvimento da digestão anaeróbia pode ser conferida na FIG. 20.

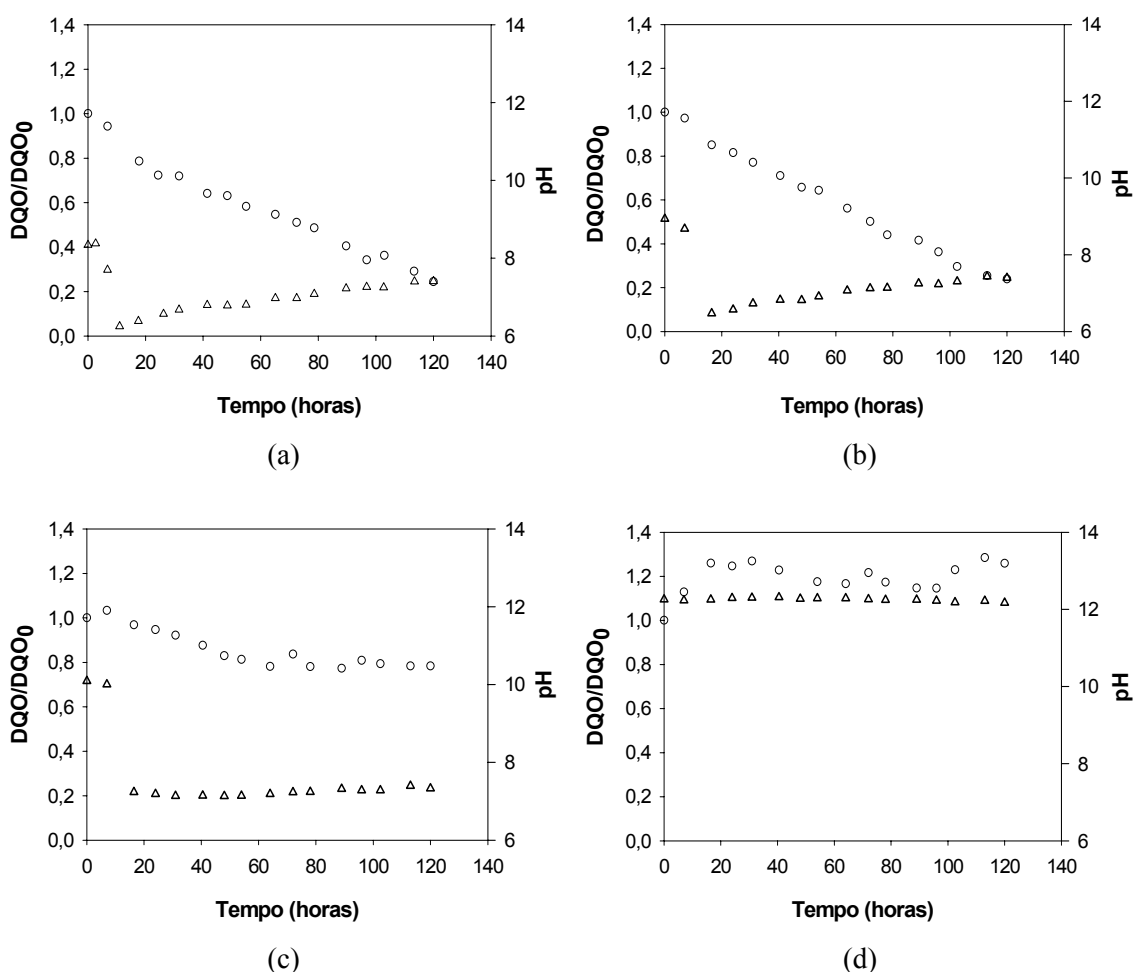


FIGURA 20 – Efeito de detergente básico na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) Controle; (b) 0,02%; (c) 0,10% e (d) 0,50%. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

Observando-se o comportamento do tratamento com 0,02% de detergente básico (FIG. 20b) nota-se que, apesar do agente principal da formulação estar presente em concentração próxima à avaliada na forma isolada, 0,019 e 0,020% NaOH

respectivamente, a curva de remoção de DQO não apresentou o período de estabilização observado no tratamento 0,02% NaOH (FIG. 15b). O comportamento correspondente ao detergente básico foi similar ao observado no controle, atingindo taxa de remoção de 21,3 mg DQO.L⁻¹.h⁻¹ e eficiência ao final da batelada de 76%. Sugere-se, portanto, a existência de um efeito antagônico entre os componentes da formulação, visto que a presença de uma das substâncias, por exemplo EDTA, reduziu o efeito inibitório de outra substância, hidróxido de sódio. Para identificação do real componente antagônico são necessários estudos complementares avaliando o efeito das combinações. Os valores iniciais de pH em todos os tratamentos foram próximos aos observados na avaliação isolada de hidróxido de sódio.

As demais concentrações avaliadas de detergente básico (FIG. 20c e 20d) apresentaram taxas e eficiências finais de remoção de DQO semelhantes às observadas para o tratamento individual envolvendo hidróxido de sódio, principal agente detergente da formulação (FIG. 15c e 15d). Portanto, as alterações resultantes da adição de 0,1 e 0,5% de NaOH não foram atenuadas pelos demais componentes da formulação.

Para a formulação de detergente ácido, os comportamentos observados em todas as concentrações avaliadas podem ser atribuídos exclusivamente à presença de ácido nítrico (FIG. 11). Apesar das diferentes concentrações de ácido nítrico entre os reatores da avaliação individual e da avaliação combinada, sistemas com valores iniciais de pH semelhantes apresentaram curvas e eficiências de remoção semelhantes. Este fato confirma que as variações observadas se devem a mudanças no pH da mistura.

.4.3.3.3. Avaliação do efeito individual de sanitizantes químicos na eficiência de remoção de DQO

Conforme apresentado na FIG. 11, dos sanitizantes químicos avaliados, o hipoclorito de sódio não apresentou efeito inibitório sobre o sistema, em nenhuma das concentrações avaliadas, ou seja, concentrações de até 50 mg.L⁻¹ cloro residual total (CRT) não influenciaram a eficiência de remoção de DQO do sistema. POELS, VAN ASSCHE e VERSTRAETE (1984) avaliaram o efeito de desinfetantes e antibióticos na digestão anaeróbia de efluentes de suinocultura e também não observaram nenhum fenômeno de inibição resultante da adição de soluções de concentrações próximas a 50 e 475 mg.L⁻¹ cloro residual livre (CRL). A principal explicação para a baixa atividade antimicrobiana do sanitizante baseia-se na inativação deste composto pela presença de

matéria orgânica. Visto que o cloro é um forte agente oxidante, quando derivados clorados são adicionados em solução reagem, em primeiro lugar, com a matéria orgânica e substâncias inorgânicas reduzidas presentes no meio. Somente após essas reações, tem-se a presença do chamado “cloro residual livre”, constituído de ácido hipocloroso e íon hipoclorito responsáveis pela ação oxidante e sanitizante dos derivados clorados (ANDRADE e MACÊDO, 1996; BITTON, 1994; MACÊDO, 2002). No presente trabalho, o alto teor inicial de matéria orgânica do sistema, cerca de 3,8 g DQO.L⁻¹, provavelmente resultou em grande perda da atividade antimicrobiana do hipoclorito, perda que se torna altamente relevante quando são empregadas pequenas quantidades de cloro (DYCHDALA, 1991). Outro importante fator que interfere na atividade antimicrobiana dos compostos clorados é o pH da solução sanitizante. O pH médio das soluções utilizadas nas diferentes repetições (8,9) não foi ajustado, evitando-se adição de qualquer outro composto ao sistema que não a substância teste. No pH citado, a concentração de ácido hipocloroso em sua forma não dissociada, forma que apresenta maior atividade biocida, é baixa (DYCHDALA, 1991; ANDRADE e MACÊDO, 1996; BITTON, 1994). Porém, segundo ANDRADE e MACÊDO (1996), apesar do hipoclorito apresentar maior eficiência em valores mais baixos de pH (pK_a 7,5 a 30 °C), para higiene industrial não é recomendada a utilização de soluções a pH muito baixo. Para sanificação de equipamentos, recomendam-se soluções 100 mg.L⁻¹ CRT pH 7,5-8,5.

Quanto ao ácido peracético, concentrações de 2,4 e 12 mg.L⁻¹ não resultaram em alterações consideráveis no sistema (FIG. 11). A FIG. 21 representa o efeito sobre a remoção de DQO causado pela adição de 60 mg.L⁻¹ de ácido peracético cujo sistema, ao término da batelada, atingiu eficiência de remoção de DQO de apenas 33,0%.

Para este tratamento, o primeiro fator a ser considerado é o efeito do pH na atividade da substância. O ácido peracético inclui-se no grupo de agentes antimicrobianos que atuam dentro de uma determinada faixa de pH sendo profundamente influenciados por mudanças relativamente pequenas no pH do meio (KOSTENBAUDER, 1991). A forma da substância considerada biocida é a forma não dissociada, sendo seu pK_a 8,2. Assim, em condições mais alcalinas como as demonstradas pelos tratamentos com 2,4 e 12 mg.L⁻¹ de ácido peracético, há uma predominância da forma dissociada do ácido resultando em uma diminuição em sua atividade antimicrobiana (KITIS, 2004).

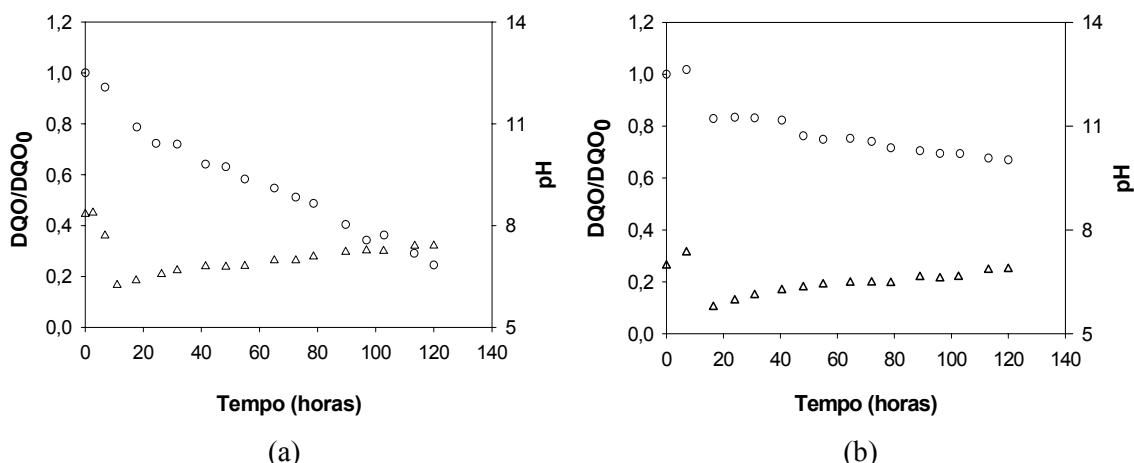


FIGURA 21 – Efeito de ácido peracético na variação de DQO (○) e pH (Δ) no reator controle (a) e no reator contendo 60 mg.L⁻¹ de ácido peracético (b). Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

Em vista disso, além do aumento da concentração de ácido peracético, a inibição observada no tratamento com 60 mg.L⁻¹ deve-se também ao valor do pH da solução após a adição da substância (média de 7,0), que se apresenta dentro da faixa onde a atividade antimicrobiana da substância é mais elevada em relação aos valores obtidos para os tratamentos de 2,4 mg.L⁻¹ (média de 8,4) e 12 mg.L⁻¹ (média de 8,0).

Embora os mecanismos de ação do ácido peracético ainda não tenham sido completamente elucidados, sua atividade antimicrobiana baseia-se na liberação de oxigênio ativo (KITIS, 2004). Algumas teorias associam seu modo de ação à oxidação de grupos sulfidríla e ligações dissulfeto de proteínas, enzimas e outros metabólitos, além da oxidação de ligações duplas. Trabalhos também sugerem atividade do ácido no rompimento da função quimiosmótica da membrana citoplasmática e do transporte por meio do deslocamento ou ruptura da parede celular (BALDRY e FRASER, 1988; LEAPER, 1984). Em nível intracelular o ácido peracético pode oxidar enzimas essenciais, prejudicando vias metabólicas vitais, transporte ativo através da membrana e níveis de soluto no interior das células. Atuação nas bases purínicas e pirimidínicas da molécula de DNA também foi sugerida por BLOCK (1991b) e KITIS (2004).

A FIG. 22 demonstra as alterações observadas na estrutura dos grânulos, resultantes do efeito da adição de 60 mg.L⁻¹ de ácido peracético ao sistema.

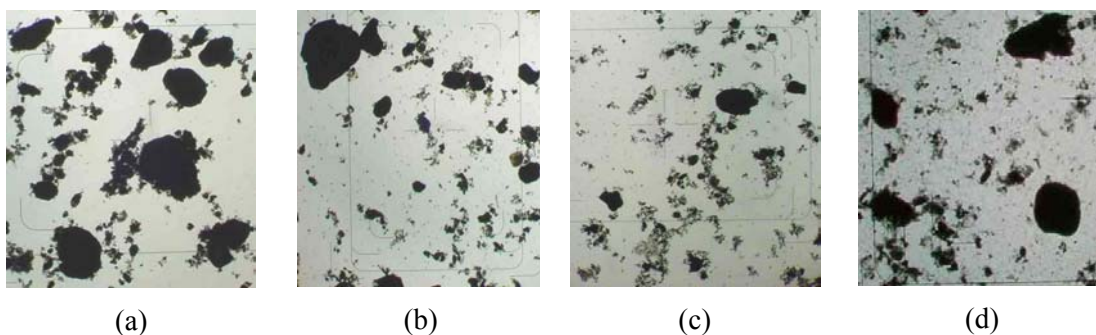


FIGURA 22 – Fotomicrografias (4x) dos grânulos presentes na mistura de reação inicial do controle (a) e na mistura contendo 60 mg.L^{-1} de ácido peracético em diferentes tempos de operação: (b) 6 horas; (c) 72 horas; (d) 120 horas.

4.3.3.4. Avaliação do efeito combinado de detergentes e sanitizantes na eficiência de remoção de DQO

Em todas as concentrações testadas, as combinações envolvendo detergente básico apresentaram desempenhos semelhantes quando comparado à sua avaliação isolada (FIG. 11). A predominância do efeito inibitório do detergente básico deve-se principalmente à baixa atividade antimicrobiana dos sanitizantes químicos avaliados em valores alcalinos de pH, como os resultantes da presença da formulação alcalina.

Para as combinações envolvendo detergente ácido, é importante ressaltar o comportamento observado no tratamento envolvendo 0,10% detergente ácido e 10 mg.L^{-1} cloro residual total, demonstrado na FIG. 23b, em que o sistema alcançou ao término da batelada uma eficiência de remoção de 74,0% da DQO inicial, valor inferior ao atingido pelo tratamento isolado com 0,10% de detergente ácido (87,9%) porém próximo à eficiência alcançada pelo reator controle após 120 horas de operação (75,5%). A redução na eficiência do sistema em relação ao tratamento isolado com detergente ácido pode ser atribuída à diminuição do pH inicial a valores onde a atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio é mais acentuada.

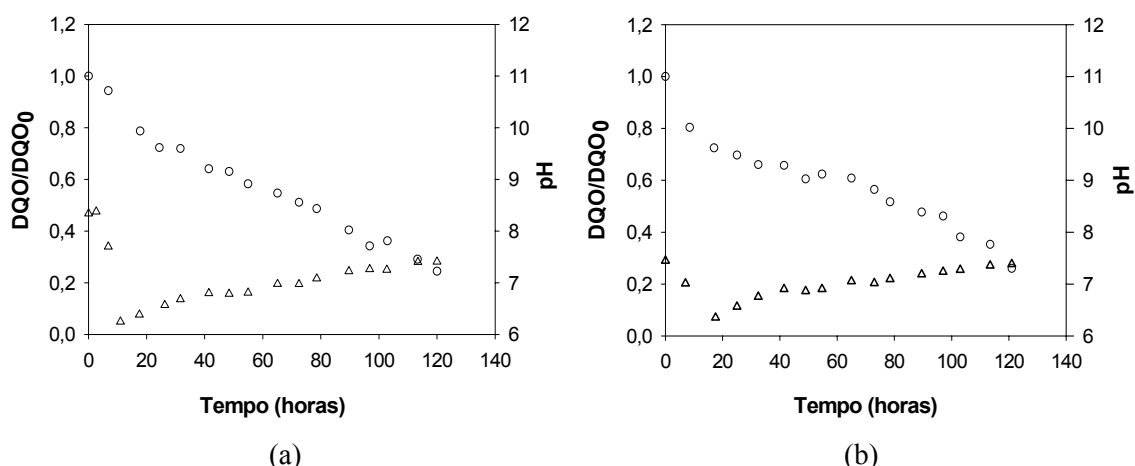


FIGURA 23 – Variação de DQO (○) e pH (Δ) no reator controle (a) e no sistema avaliando o efeito combinado de 0,10% detergente ácido e 10 mg.L⁻¹ CRT (b). Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

Para as demais combinações envolvendo a formulação ácida, observou-se a predominância do efeito resultante da adição isolada do detergente (FIG. 11). A combinação de 0,10% de detergente ácido e 12 mg.L⁻¹ de ácido peracético confirma a ausência de atividade antimicrobiana do ácido peracético nesta concentração, mesmo em valores de pH abaixo de seu pK_a. Para as duas combinações envolvendo a maior concentração de detergente ácido, a predominância do efeito isolado do detergente deve-se ao baixo valor de pH resultante da fase acidogênica, que inibe severamente a atividade dos microrganismos metanogênicos. Esse comportamento demonstra a magnitude da influência de grandes alterações de pH sobre o sistema.

5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Antes de relacionar os efeitos dos diferentes agentes químicos sobre o sistema anaeróbio avaliado, é importante ressaltar o impacto significativo do pH na performance do processo. Este parâmetro pode influenciar o desempenho do sistema de dois modos: diretamente, afetando a atividade microbiana por meio de alterações enzimáticas, modificações nas vias metabólicas ou mesmo na estrutura da membrana; ou indiretamente, afetando a atividade antimicrobiana dos agentes químicos avaliados. Além disso, vale ressaltar que o efeito observado para cada agente químico, nas concentrações avaliadas, está diretamente relacionado ao pH inicial do sistema em questão.

Os efeitos dos agentes alcalino e ácido avaliados isoladamente foram correlacionados à influência do pH na performance do sistema.

O efeito resultante da adição de surfactantes depende da natureza da molécula, podendo resultar em alterações benéficas ou prejudiciais ao sistema. Neste estudo, concentrações acima de 150 mg.L^{-1} do surfactante aniônico dodecilsulfato de sódio causaram inibição do sistema, enquanto concentrações de 15 mg.L^{-1} do surfactante não iônico Tween 80 estimularam o processo de digestão anaeróbia.

Os agentes complexantes avaliados, independente de sua natureza orgânica (EDTA) ou inorgânica (hexametáfosfato de sódio), não resultaram em alterações consideráveis no sistema nas concentrações avaliadas.

Nas concentrações avaliadas, a adição de hipoclorito de sódio não resultou em efeito inibitório, podendo esse comportamento estar relacionado a uma série de fatores como pH da solução sanitizante, pH da mistura de reação, inativação do hipoclorito pela presença de matéria orgânica ou acessibilidade dificultada do composto à estrutura granular do lodo. Para um maior esclarecimento do efeito deste sanitizante químico sobre os microrganismos do lodo são sugeridos estudos complementares explorando essas diferentes variáveis. Apesar de apresentarem mecanismos de ação semelhantes, o ácido peracético reduziu a performance do sistema quando adicionado na concentração de 60 mg.L⁻¹.

Para as formulações de detergentes a maioria dos comportamentos observados foi similar aos resultantes da adição isolada do agente principal da formulação, não havendo portanto sinergismo entre seus componentes. Deve-se ressaltar contudo o efeito antagônico observado para o tratamento com 0,02% de detergente alcalino, em que foi notada uma atenuação do efeito inibitório gerado pela presença de 0,02% hidróxido de sódio.

Para as associações entre detergentes e sanitizantes, a predominância do efeito gerado pela presença isolada da formulação de detergente confirma a magnitude da influência de alterações do pH sobre a microbiota do sistema e sobre o efeito antimicrobiano dos sanitizantes químicos avaliados.

Os resultados deste estudo permitiram a identificação dos agentes químicos e das concentrações desses compostos que interferem na eficiência de remoção de matéria orgânica do sistema, ou seja, na eficiência global do tratamento anaeróbio de efluentes. Porém, um determinado agente químico pode exercer efeitos distintos nos diferentes grupos de microrganismos envolvidos no processo de digestão anaeróbia. Sugere-se portanto, a avaliação do efeito dos agentes químicos que influenciaram consideravelmente a eficiência global do processo sobre as atividades hidrolítica, acidogênica e metanogênica do lodo anaeróbio.

Outro fator a ser explorado é o potencial de aclimação dos microrganismos. Dependendo da natureza, concentração e mecanismo de ação do composto, a exposição do lodo a substâncias consideradas tóxicas ou inibitórias resulta na seleção de microrganismos resistentes ou adaptação microbiana às condições adversas por meio de síntese de novas enzimas ou alterações nas vias metabólicas.

Assim, são sugeridos estudos avaliando a reação do sistema a alimentações sucessivas de substrato sintético contendo as mesmas concentrações de agentes químicos avaliadas, para avaliação do potencial de aclimação dos microrganismos em questão.

Estudos de reversibilidade também são recomendados visto que, para algumas substâncias tóxicas, pesquisas têm demonstrado que a remoção do composto do meio líquido implica em uma aceleração na recuperação do sistema.

Todos esses esclarecimentos podem ajudar a dissipar a referência que a presença de substâncias potencialmente tóxicas elimina o tratamento anaeróbio como alternativa viável. Além disso, modelos descrevendo o efeito da toxicidade em sistemas anaeróbios podem auxiliar na seleção de configurações e estratégias de operação para tratamento eficiente de efluentes industriais contendo substâncias tóxicas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, M.R. Progress in industrial microbiology: microorganisms in the production of food. Amsterdam: Elsevier Science, 1986. 316 p.
- ANDRADE, N.J.; MACÊDO, J.A.B. Higienização na indústria de alimentos. São Paulo: Varela, 1996. 182 p.
- ANDRADE, N.J.; MACÊDO, J.A.B. Controle da higiene na indústria de alimentos: Análises físico-químicas e bacteriológicas de água, detergentes e sanitizantes. Viçosa, MG: Departamento de Tecnologia de Alimentos – UFV, 1994.
- ANGENENT, L.T.; KARIM, K.; AL-DAHMAN, M.H.; WRENN, B.A.; DOMÍGUEZ-ESPINOSA, R. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. Trends in Biotechnology, v. 22, n. 9, p. 477-485, 2004.
- APHA (American Public Health Association), American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20. ed. Washington: APHA, 1998.
- BALDRY, M.G.C.; FRASER, J.A.L. Disinfection with peroxygens. In: KITIS, M. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. Environment International, v. 30, p. 47– 55, 2004.
- BERUBE, R.; OXBORROW, S.G. Methods of testing sanitizers and bacteriostatic substances. In: BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.1058-1068.

- BITTON, G. Wastewater microbiology. New York: Wiley-Lyss, 1994. 478 p.
- BLOCK, S.S. Definition of terms. In: BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991a. p. 18-25.
- BLOCK, S.S. Peroxygen compounds. In: BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991b. p.167-181.
- BORZACCONI, L.; LÓPEZ, I.; VIÑAS, M. Application of anaerobic digestion to the treatment of agroindustrial effluents in Latin America. Water Science and Technology, v. 22, n. 12, p. 105-111, 1995.
- CHERNICHARO, C.A.L. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: reatores anaeróbios. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 1997. v. 5, 246 p.
- CSERHÁTI, T.; FORGÁCS, E.; OROS, G. Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. Environment International, v. 28, p. 337-348, 2002.
- DE BEER, D. HUISMAN, J.W.; VAN DE HEUVEL, J.C.; OTTENGRAF, S.P.P. The effect of pH profiles in the methanogenic aggregates on the kinetics of acetate conversion. Water Research v. 26, n. 10, p. 1329-1336, 1992.
- DENTON, G.W. Clorhexidina. In: BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 274-289.
- DYCHDALA, G.R. Chlorine and chlorine compounds. In: BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 131-151.
- DYCHDALA, G.R; LOPES, J.A. Surface-active agents: acid-anionic compounds. In: BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 256-262.
- ERGÜDER, T.H.; GÜVEN, E.; DEMIRER, G.N. The inhibitory effects of lindane in batch and UASB reactors. Chemosphere, v. 50, p. 165-169, 2003.
- FANG, H.H.P.; CHAN, O.C. Toxicity of phenol towards anaerobic biogranules. Water Research, v. 31, n. 9, p. 2229-2242, 1997.
- FEIJOO, G.; SOTO, M.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J.M. Sodium inhibition in the anaerobic digestion process: antagonism and adaptation phenomena. Enzyme and Microbial Technology, v. 17, p. 180-188, 1995.

- FEITKENHAUER, H. Anaerobic digestion of desizing wastewater: influence of pretreatment and anionic surfactant on degradation and intermediate accumulation. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 33, p. 250-258, 2003.
- FEITKENHAUER, H.; MEYER, U. Anaerobic digestion of alcohol sulfate (anionic surfactant) rich wastewater – batch experiments. Part II: influence of the hydrophobic chain length. *Bioresource Technology*, v. 82, p. 123-129, 2002a.
- FEITKENHAUER, H.; MEYER, U. Anaerobic digestion of alcohol sulfate (anionic surfactant) rich wastewater – batch experiments. Part I: influence of the surfactant concentration. *Bioresource Technology*, v. 82, p. 115-121, 2002b.
- FOSTER, J.W. When protons attack: microbial strategies of acid adaptation. *Current Opinion in Microbiology*, v. 2, p. 170-174, 1999.
- FRASER, J.A.L. Novel applications of peracetic acid in industrial disinfection. *Specific. Chem.*, v. 7, p. 180-182, 1987.
- GAINEY, P.L.; LORD, T.H. *Microbiology of water and sewage*. New Jersey: Prentice-Hall, 1952. 430 p.
- GARCÍA, M.T.; CAMPOS, E.; SANCHEZ-LEAL, J.; RIBOSA, I. Anaerobic degradation and toxicity of commercial cationic surfactants in anaerobic screening tests. *Chemosphere*, v. 41, p. 705-710, 2000.
- GAVALA, H.N.; AHRINHG, B.K. Inhibition of the anaerobic digestion process by linear alkylbenzene sulfonates. *Biodegradation*, v. 13, p. 201-209, 2002.
- GIESE, J.H. Sanitation: the key to safety and public health. *Food Technology*, v. 45, p. 74-80, 1991.
- GOTTARDI, W. Iodine and iodine compounds. In: BLOCK, S.S. *Disinfection, sterilization and preservation*. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 152-166.
- GRADY, C.P.L.JR.; DAIGGER, G.T.; LIM, H.C. *Biological wastewater treatment*. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1999.
- GROMMEN, R.; VERSTRAETE, W. Environmental biotechnology: the ongoing quest. *Journal of Biotechnology*, v. 98, p. 113-123, 2002.
- HAYES, P.R. *Food microbiology and hygiene*. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1995. 516 p.

- HEDRICK, D.B.; VASS, A.; RICHARDS, B.K.; JEWELL, W.J.; GUCKERT, J.B.; WHITE, D.C. Starvation and overfeeding stress on microbial activities in high-solids high-yield methanogenic digesters. *Biomass and Bioenergy*, v. 1, n. 2, p. 75-82, 1991.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods). *Microorganisms in foods 1: factors affecting life and death of microorganisms*. New York: Academic Press, 1988. 357 p.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods). *Microorganisms in foods 4: application of the hazard analysis critical control point (haccp) system to ensure microbial safety and quality*. Cornwall: Columns, 1995. 357 p.
- JAMES, A.; CHERNICHARO, C.A.L.; CAMPOS, C.M.M. The development of a new methodology for the assessment of specific methanogenic activity. *Water Research*, v. 24, n. 7, p. 813-825, 1990.
- JAWED, M.; TARE, V. Microbial composition assessment of anaerobic biomass through methanogenic activity tests. *Water SA*, v. 25, n. 3, p. 345-350, 1999.
- JENSEN, J. Fate and effects of linear alkylbenzene sulphonates (LAS) in the terrestrial environment. *The Science of the Total Environment*, v. 226, p. 93-111, 1999.
- KHALIL, E.F.; WHITMORE, T.N.; GAMAL-EL-DIN, H.; EL-BASSEL, A.; LLOYD, D. The effects of detergents on anaerobic digestion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 29, p. 517-522, 1988.
- KITIS, M. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environment International*, v. 30, p. 47– 55, 2004.
- KOSTENBAUDER, H.B. Physical factors influencing the activity of antimicrobial agents. In: BLOCK, S.S. *Disinfection, sterilization and preservation*. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 59-71.
- KOSTER, I.W.; LETTINGA, G. The influence of ammonium-nitrogen on the specific activity of pelletized methanogenic sludge. *Agricultural Wastes*, v. 9, p. 205-216, 1984.
- LEAPER, S. Synergistic killing of spores of *Bacillus subtilis* by peracetic acid and alcohol. *Journal of Food Technology*, v. 19, p. 355-360, 1984.

- LEE, S.S.; KIM, H.S.; MOON, Y.H.; CHOI, N.J.; HA, J.K. The effects of a non-ionic surfactant on the fermentation characteristics, microbial growth, enzyme activity and digestibility in the rumen of cows. *Animal Feed Science and Technology*, v. 115, p. 37-50, 2004.
- LETTINGA, G.; HULSHOF POL, L. W. e ZEEMAN, G. Biological wastewater treatment: anaerobic wastewater treatment. *Lectures Notes*. Wageningen: Wageningen Agricultural University, 1996.
- LIN, C.Y. Effect of heavy metals on volatile fatty acid degradation in anaerobic digestion. *Water Research*, v. 26, n. 2, p. 177-183, 1992.
- LIU, Y.; XU, H.L.; YANG, S.F.; TAY, J.H. Mechanisms and models for anaerobic granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Water Research*, v. 37, p. 661-673, 2003.
- LÓPEZ-FIUZA, J.; BUYS, B.; MOSQUERA-CORRAL, A.; OMIL, F.; MÉNDEZ, R. Toxic effects exerted on methanogenic, nitrifying and denitrifying bacteria by chemicals used in a milk analysis laboratory. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 31, p. 976-985, 2002.
- MACÊDO, C.S.; ANDRADE, N.J.; MELLO, C.A. Avaliação de sanificantes químicos sobre psicrotrófico acidificante isolado de leite cru usando-se teste de uso simulado. In: *INTERATIONAL DAIRY CONGRESS*, 1, Belo Horizonte, 1996. Program. Belo Horizonte, 1996 (Resumo, 14).
- MACÊDO, J.A.B.; ANDRADE, N.J.; CHAVES, J.B.P.; ARAÚJO, J.M.A.; SILVA, M.T.C.; JORDÃO, C.P. Formação de trihalometanos em soluções sanitizantes utilizadas no processo de desinfecção de indústrias de alimentação. *Revista Técnica da SANEPAR (SANARE)*, v. 17, n. 17, p. 31-48, 2002.
- MARTINS, E.C.; KUAYE, A.Y. Emprego do ácido peracético e outros sanitizantes na indústria de alimentos. *Hig. Aliment.*, v. 10, p. 5-8, 1996.
- McFARLAND, M.J.; JEWELL, W.J. The effect of sulfate reduction on the termofílica (55 °C) methane fermentation process. *J. Ind. Microbiol.*, v. 45, p. 247-258, 1990. In: BITTON, G. *Wastewater microbiology*. New York: Wiley-Lyss, 1994. 478 p.
- MENSAH, K.A.; FORSTER, C.F. An examination of the effects of detergents on anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, v. 90, p. 133-138, 2003.

- MERIANOS, J.J. Quaternary ammonium antimicrobial compounds. In: BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 225-255.
- MEZZANOTTE, V.; CASTIGLIONI, F.; TODESCHINI, R.; PAVAN, M. Study on anaerobic and aerobic degradation of different non-ionic surfactants. *Bioresource Technology*, v. 87, p. 87-91, 2003.
- MONTEGGIA, L.O. Proposta de metodologia para avaliação do parâmetro “atividade metanogênica específica”. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 19, 1997, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu: ABES, 1997. 1 CD-ROM.
- MÖSCHE, M.; MEYER, U. Toxicity of linear alkylbenzene sulfonate in anaerobic digestion: influence of exposure time. *Water Research*, v. 36, p. 3253-3260, 2002.
- NAGEL, P.; URTUBIA, A.; AROCA, G.; CHAMY, R.; SCHIAPPACASSE, M. Methanogenic toxicity and anaerobic biodegradation of chemical products in use in a brewery. *Water Science and Technology*, v. 40, n. 8, p. 169-176, 1999.
- O'FLAHERTY, V.; MAHONY, T.; O'KENNEDY, R.; COLLERAN, E. Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria. *Process Biochemistry*, v. 33, n. 5, p. 555-569, 1998.
- OLMI, V.R.; PIRES, A.M.B.; RAMOS, A.L.S.; KAMEYAMA, O.; ANTONIO, R.Z.; MANCILHA, I.M.; PASSOS, F.J.V. Comparação do comportamento de um meio sintético e de um efluente de suinocultura frente ao tratamento anaeróbio por reatores UASB. *CERES*, 2006. Submetido.
- PARKIN, G.F.; SPEECE, R.E. Modeling toxicity in methane fermentation systems. *J. Environ. Eng. Div. Proc. Am. Soc. Civ. Eng.*, v. 108, p. 515-531, 1982.
- PARKIN, G.F.; SPEECE, R.E.; YANG, C.H.J.; KOCHER, W.M. Response of methane fermentation systems to industrial toxicants. *Journal WPCF*, v. 55, n. 1, p. 44-53, 1983.
- PELCZAR, M.R.; CHAN, E.C.S. Controle por agentes químicos. In: PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E.C.S. *Microbiologia*. São Paulo: McGraw Hill, 1980. v. 1, p. 493-516.

- RAJESHWARI, K.V.; BALAKRISHNAN, M.; KANSAL, A.; LATA, K.; KISHORE, V.V.N. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, v. 4, p. 135-156, 2000.
- RINZEMA, A.; VAN LIER, J.; LETTINGA, G. Sodium inhibition of acetoclastic methanogens in granular sludge from a UASB reactor. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 10, p. 24-32, 1988.
- SCHMIDT, J.E.; AHRING, B.K. Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 29, p. 229-246, 1996.
- SEKIGUCHI, Y.; KAMAGATA, Y.; HARADA, H. Recent advances in methane fermentation technology. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 12, p. 277-282, 2001.
- SHULER, M.L.; KARGI, F. *Bioprocess engineering: basic concepts*. 2. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 553 p.
- SOTO, M.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J.M. Methanogenic and non-methanogenic activity tests: theoretical basis and experimental set up. *Water Research*, v.27, n.8, p.1361-1376, 1993.
- SPEECE, R.E. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.*, v. 17, p. 677-683, 1983.
- VALCKE, D.; VERSTRAETE, W. A practical method to estimate the acetoclastic methanogenic biomass in anaerobic sludges. *Journal WPCF*, v. 55, n. 9, p. 1191-1195, 1983.
- VAN HAANDEL, A.C.; LETTINGA, G. *Tratamento anaeróbio de esgotos: um manual para regiões de clima quente*. Campina Grande: Epgraf, 1994. 208 p.
- VERSTRAETE, W. Energy and the entropy business. *Nature Biotechnology*, v. 17, p. 27-28, 1999.
- WALKER, H.W.; LAGRANGE, W.S. Sanitation in food manufacturing operations. In: BLOCK, S.S. *Disinfection, sterilization and preservation*. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 791-801.

- WALTER, M.V.; CRAWFORD, R.L. Overview: biotransformation and biodegradation. In: HURST, C. J.; KNUDSEN, G. R.; McINERNEY, M. J.; STETZENBACH, L.D.; WALTER, M.V. Manual of environmental microbiology. Washington: American Society for Microbiology Press, 1996. 894 p.
- WEI, C.; COOK, D.L.; KIRK, J. Use of chlorine and chlorine compounds in the food industry. Food Technology, v. 39, p. 107-115, 1985.
- WHITE, D. The physiology and biochemistry of prokaryotes. 2. ed. New York: Oxford University Press, 2000. 548 p.
- WICKRAMANAYAKE, G.B.; SPROUL, O.J. Kinetics of the inactivation of microorganisms. In: BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 72-84.
- YU, H.Q.; TAY, J.H; FANG, H.H.P. The role of calcium in sludge granulation during UASB reactor start-up. Water Research, v. 35, n. 4, p. 1052-1060, 2001.

7 APÊNDICE

APÊNDICE

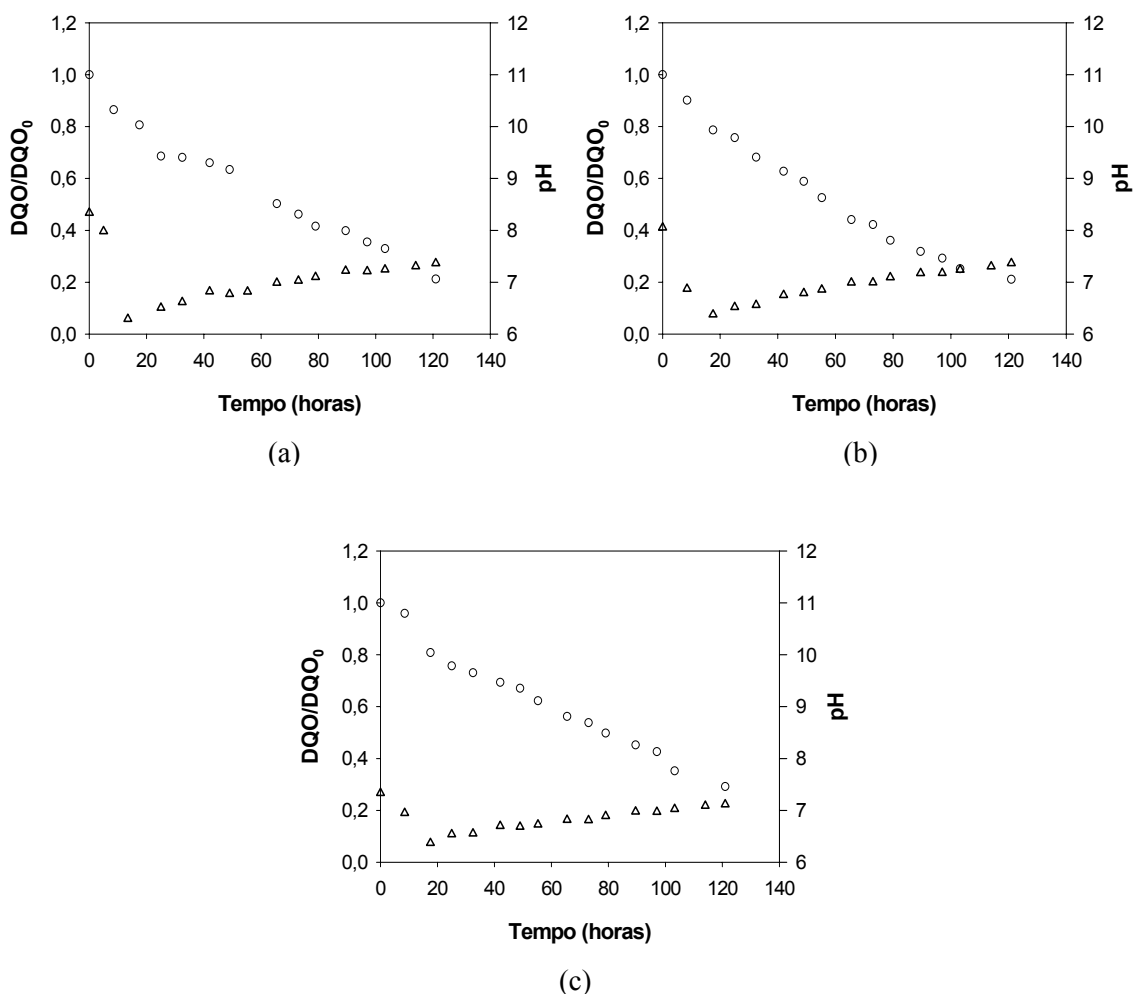


FIGURA 1A – Efeito de hexametáfosfato de sódio na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 60 mg.L⁻¹; (b) 300 mg.L⁻¹; (c) 1500 mg.L⁻¹. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

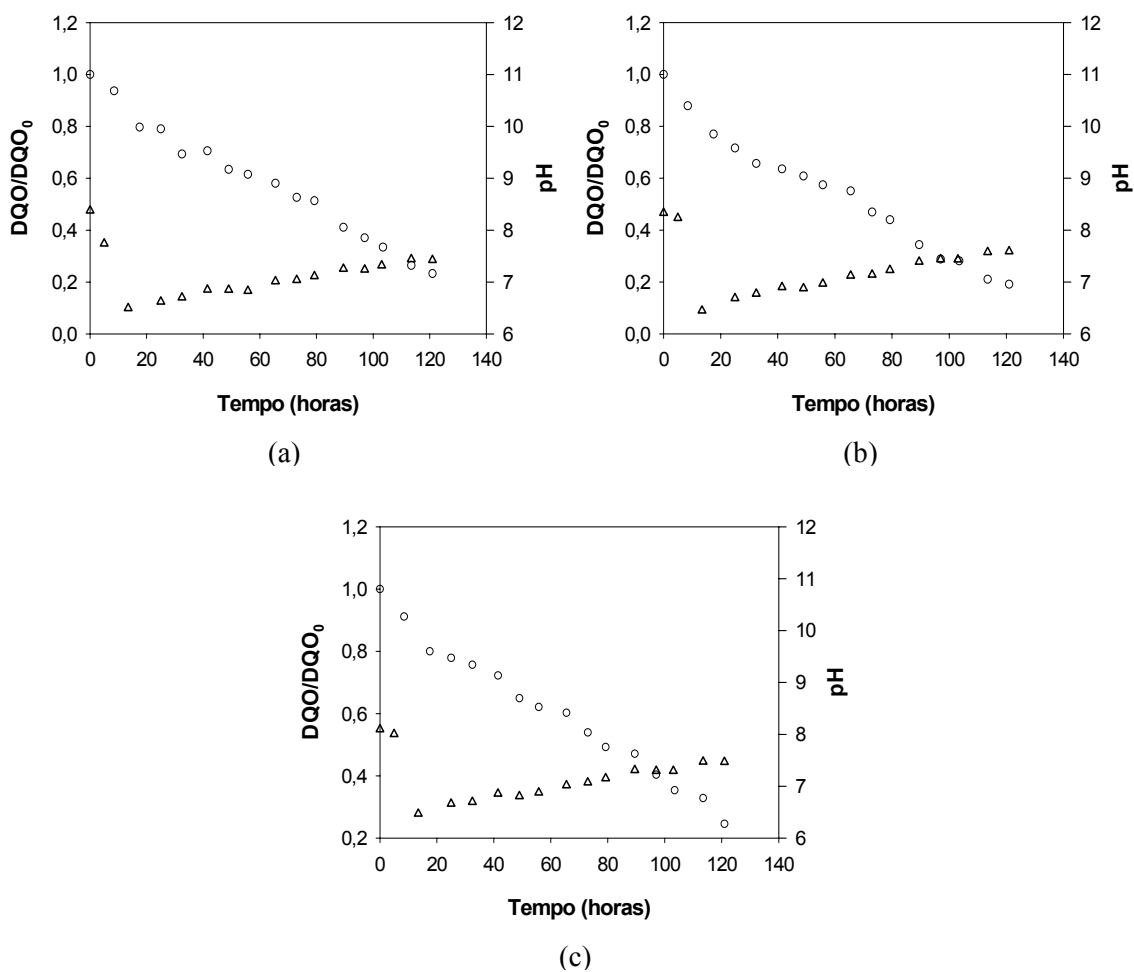


FIGURA 2A – Efeito de EDTA na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 10 mg.L⁻¹; (b) 50 mg.L⁻¹; (c) 250 mg.L⁻¹. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

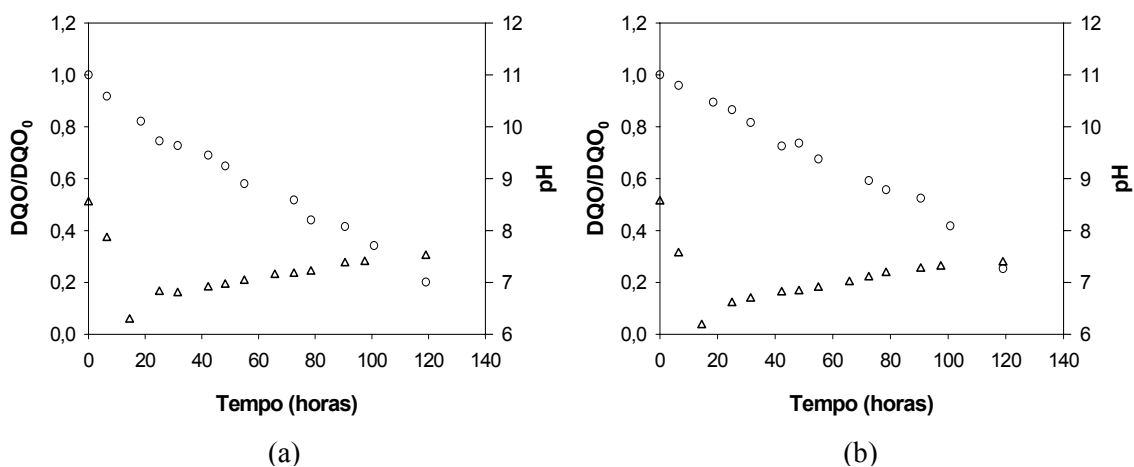


FIGURA 3A – Efeito de Tween 80 na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 0,6 mg.L⁻¹; (b) 3 mg.L⁻¹. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

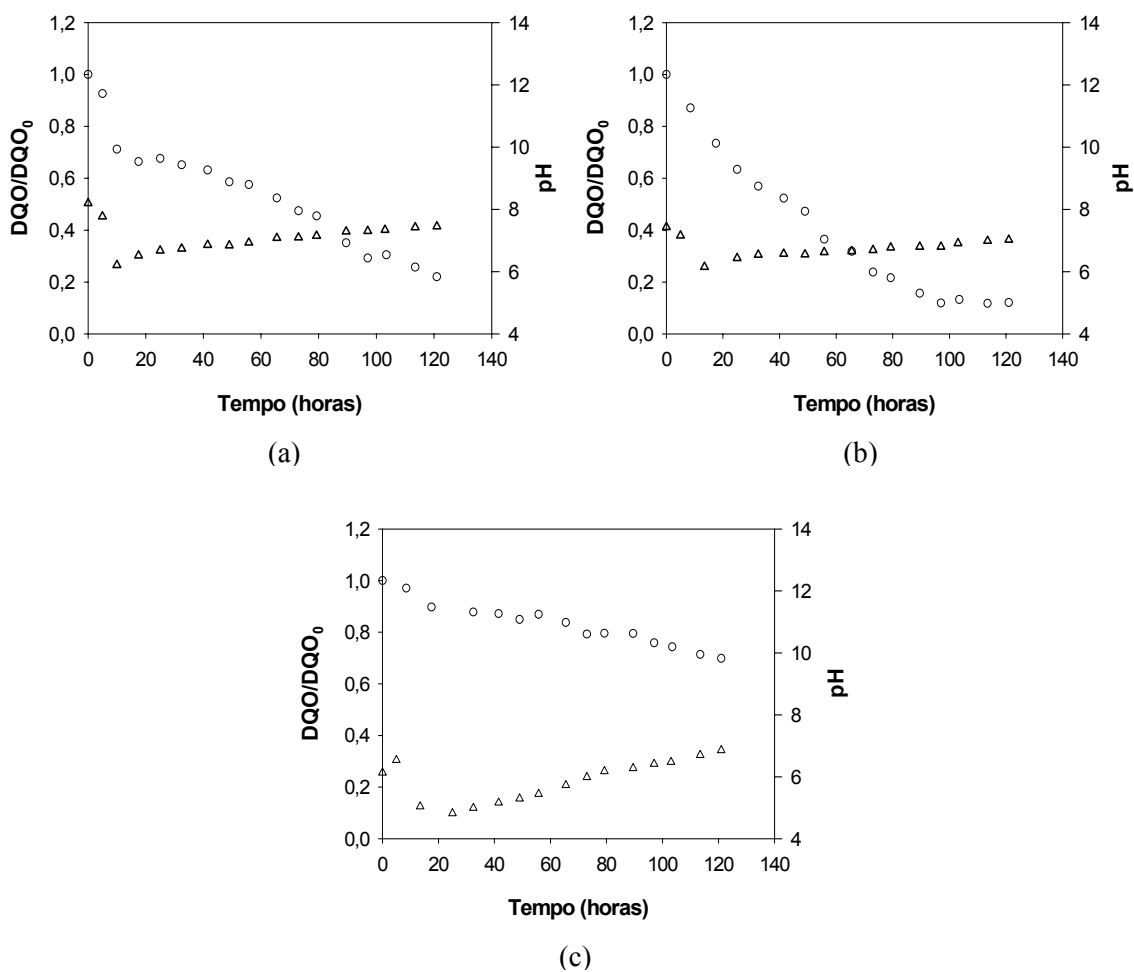


FIGURA 4A – Efeito de detergente ácido na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 0,02%; (b) 0,1%; (c) 0,5%. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

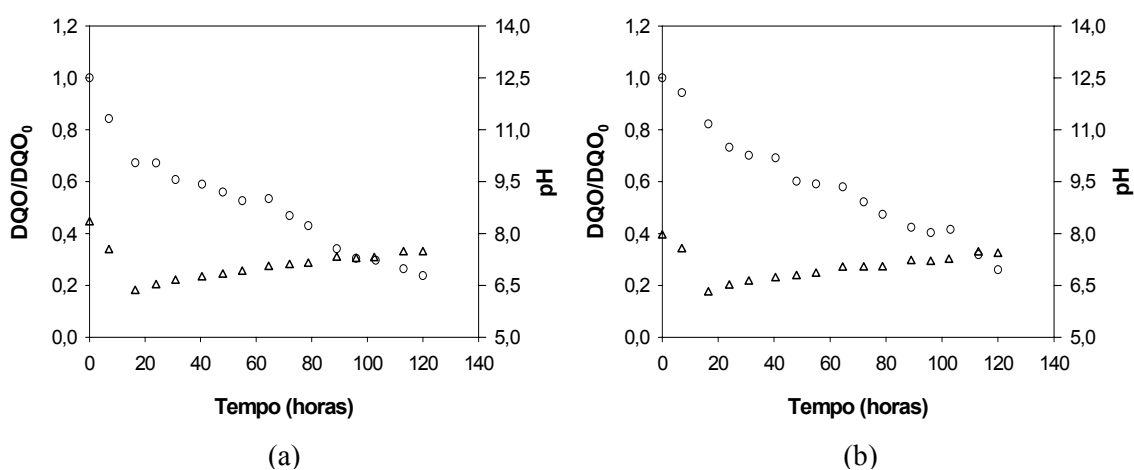


FIGURA 5A – Efeito de ácido peracético na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 2,4 mg.L⁻¹; (b) 12 mg.L⁻¹. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

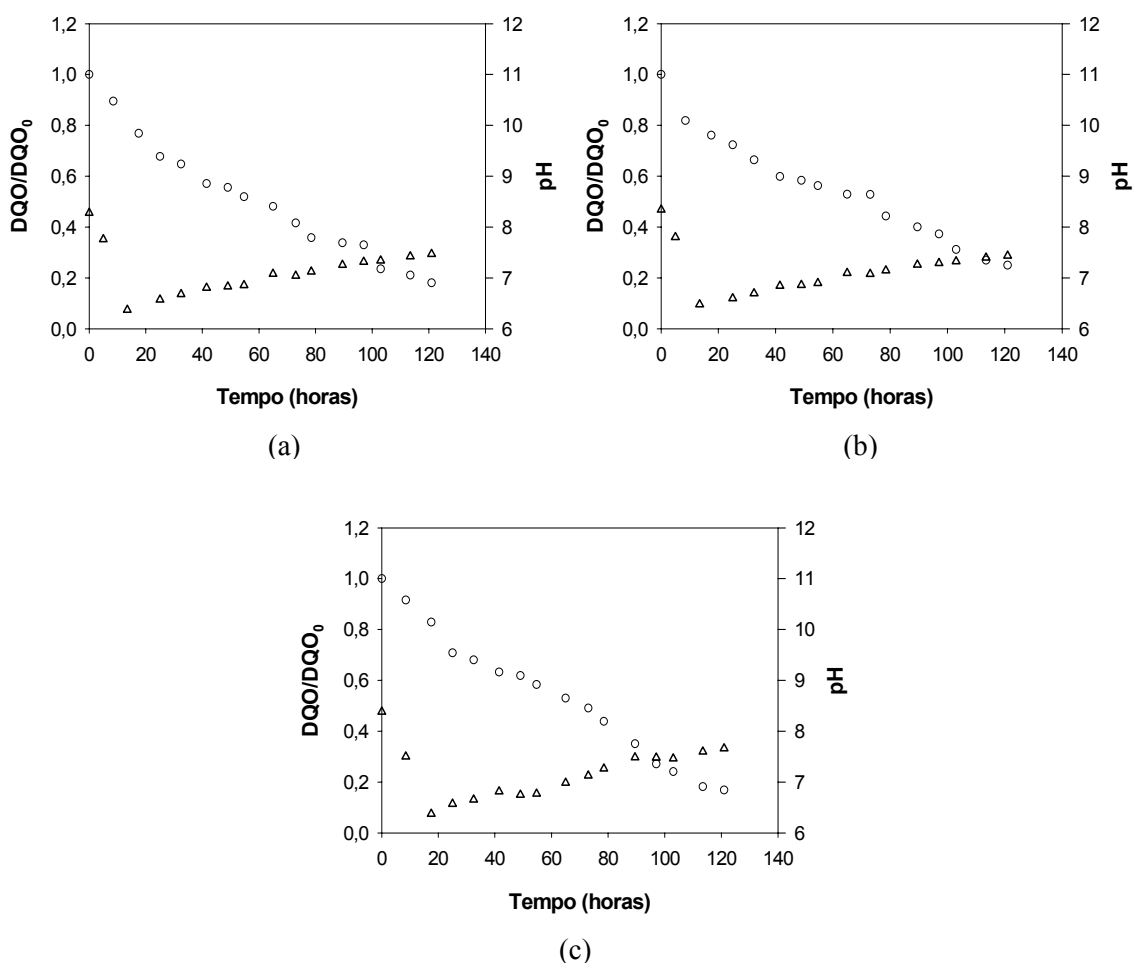


FIGURA 6A – Efeito de hipoclorito de sódio na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbico em batelada: (a) 2 mg.L⁻¹ CRT; (b) 10 mg.L⁻¹ CRT; (c) 50 mg.L⁻¹ CRT. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

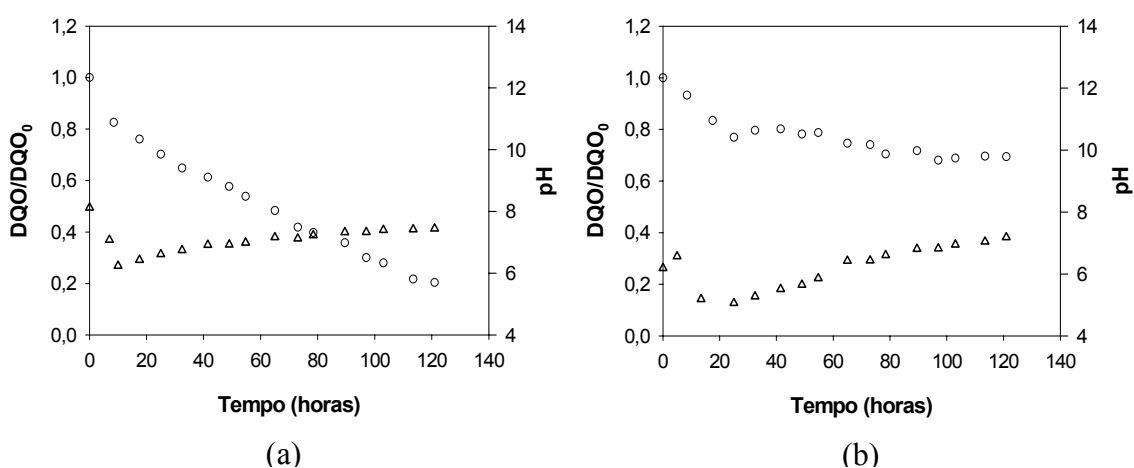


FIGURA 7A – Efeito da combinação detergente ácido (Da) e hipoclorito de sódio na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbico em batelada: (a) 0,02% Da e 2 mg.L⁻¹ CRT; (b) 0,5% Da e 250 mg.L⁻¹ CRT. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

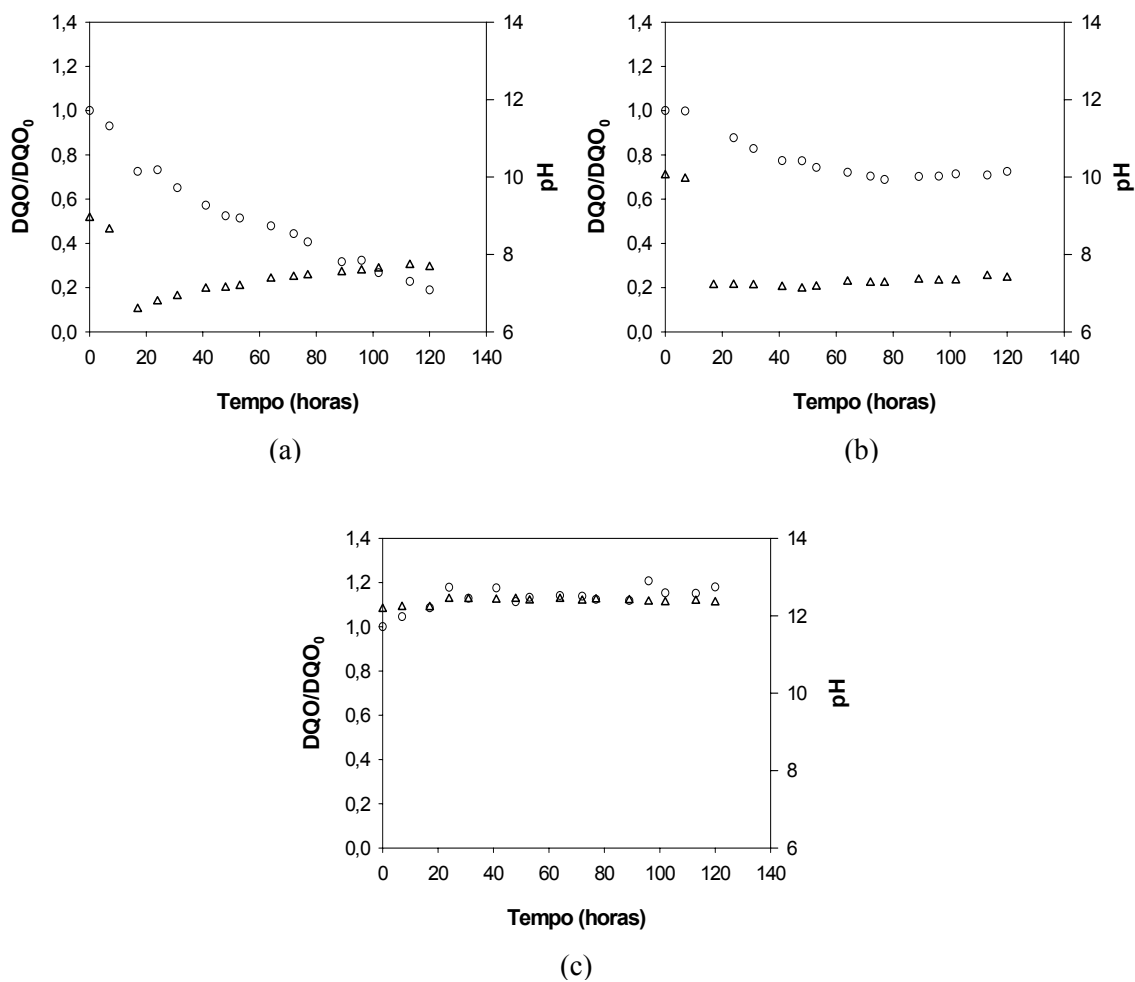


FIGURA 8A – Efeito da combinação detergente básico (Db) e hipoclorito de sódio na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 0,02% Db e 2 mg.L⁻¹ CRT; 0,1% Db e 10 mg.L⁻¹ CRT; (b) 0,5% Db e 50 mg.L⁻¹ CRT. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

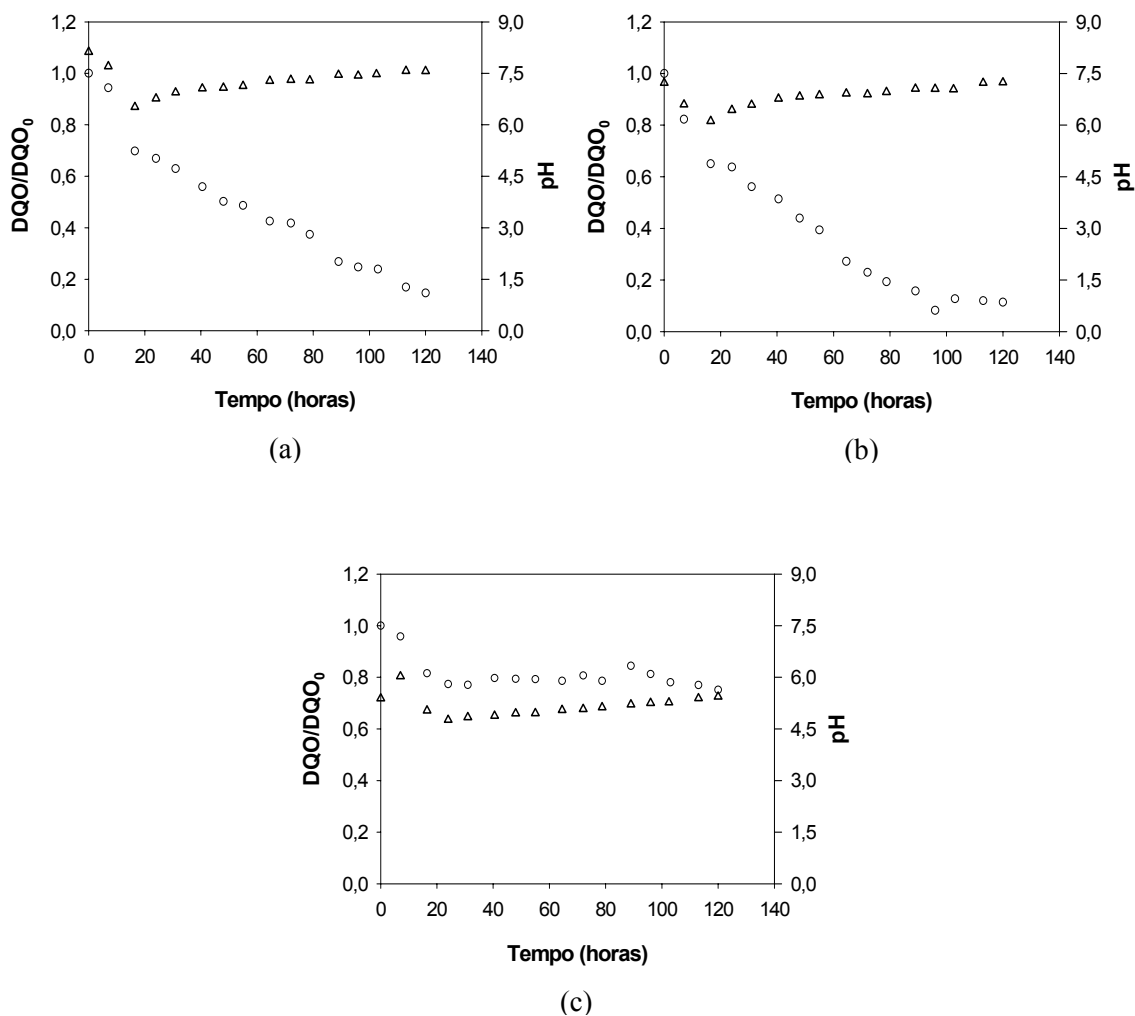


FIGURA 9A – Efeito da combinação detergente ácido (Da) e ácido peracético (APA) na variação de DQO (○) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 0,02% Da e 2,4 mg.L⁻¹ APA; (b) 0,1% Da e 12 mg.L⁻¹ APA; (c) 0,5% Da e 60 mg.L⁻¹ APA. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.

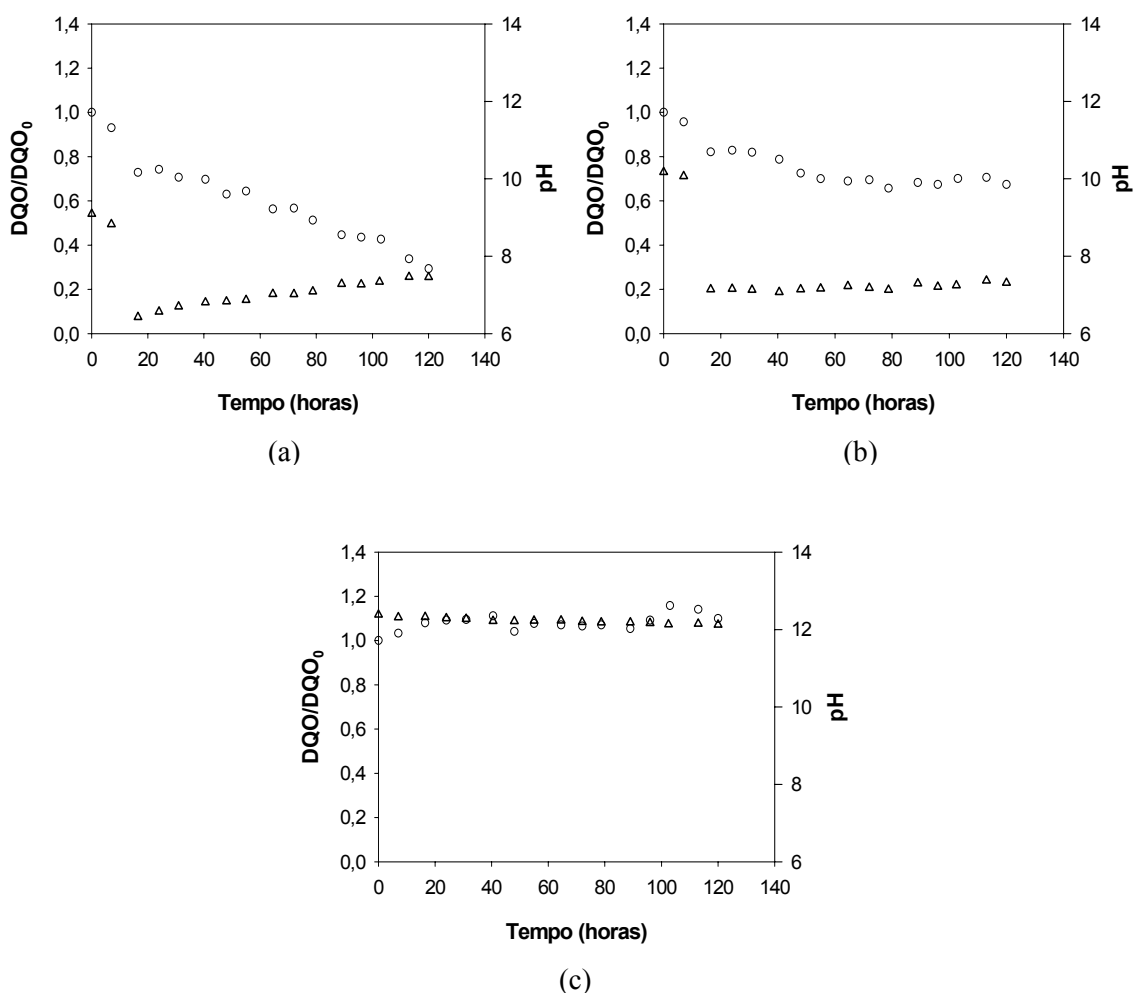


FIGURA 10A – Efeito da combinação detergente básico (Db) e ácido peracético (APA) na variação de DQO ($\circ$) e pH (Δ) em reator anaeróbio em batelada: (a) 0,02% Db e 2,4 mg.L⁻¹ APA; (b) 0,1% Db e 12 mg.L⁻¹ APA; (c) 0,5% Db e 60 mg.L⁻¹ APA. Os valores apresentados correspondem à média de duas repetições.