

MAURÍLIO DUARTE BATISTA

EFFECTIVE MICROORGANISMS (EM) COMO
BIOALIMENTADORES NA DIGESTÃO ANAERÓBIA DE
RESÍDUOS DE BOVINOS

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte do programa de Pós-Graduação
em Engenharia Agrícola, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

B333e
2014 Batista, Maurílio Duarte, 1986-
 Effective microorganisms (EM) como bioalimentadores
 na digestão anaeróbia de resíduo de bovino / Maurílio
 Duarte Batista. - Viçosa, MG, 2014.
 x, 55f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

 Orientador : Richard Stephen Gates.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.
 Referências bibliográficas: f.49-55.

 1. Biodigestores. 2. Inóculo. 3. Bioalimentadores.
4. Digestão anaeróbia. 5. *Effective microorganims*. 6. .
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Engenharia Agrícola. Programa de Pós-graduação em
Engenharia Agrícola. II. Título.

CDD 22. ed. 665.776

MAURÍLIO DUARTE BATISTA

EFFECTIVE MICROORGANISMS (EM) COMO
BIOALIMENTADORES NA DIGESTÃO ANAERÓBIA DE
RESÍDUO DE BOVINO

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte do programa de Pós-Graduação
em Engenharia Agrícola, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*

APROVADA: 25 de abril de 2014.

Sérgio Maurício Lopes Donzeles

Ilda de Fátima Ferreira Tinôco

Cecília de Fátima de Souza
(Coorientadora)

Richard S. Gates
(Orientador)

A Deus,
À minha família e meus amigos.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Engenharia Agrícola, pela oportunidade de realização deste trabalho;

Ao Professor Richard S. Gates e à Professora Cecília de Fátima Souza pela orientação, apoio e atenção;

À Professora Ilda de Fátima Ferreira Tinôco e aos Professores Alisson Carraro Borges, Irene Maria Cardoso (Departamento de Solos) e Paulo Roberto Cecon pelos incentivos e pelas contribuições que contribuíram para a melhoria deste trabalho;

Aos meus pais e familiares, formadores de meu caráter, exemplo de conduta, que me auxiliaram em toda minha vida acadêmica;

À minha esposa Natália Silva e Souza Leite e filha, à minha filha, Júlia Leite Batista, pelo amor, carinho e compreensão em todos os momentos;

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo;

Aos amigos do Departamento de Engenharia Agrícola, em especial os do AMBIAGRO, por estarem presentes nos momentos de alegrias e nos de dificuldades.

BIOGRAFIA

Maurílio Duarte Batista, filho de Paulo Estevam Batista e Rita de Cássia Duarte Batista nasceu em Ubá / MG 03 de setembro de 1986.

Filho de agricultores familiares da Zona da Mata Mineira, formou – se Engenharia Agrícola e Ambiental na Universidade Federal de Viçosa (UFV), diplomando – se em julho de 2011.

Em março de 2012 ingressou no Mestrado em Engenharia Agrícola – Área de Concentração em Construções Rurais e Ambiência do Programa de Pós – Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DE LITERATURA	5
Produção bovina e geração de resíduos	5
Processo de degradação anaeróbia	6
O inóculo	13
Biogás e Atividade Metanogênica Específica	15
O tratamento anaeróbio de resíduos	19
Biodigestores	20
Effective Microorganisms (EM)	22
MATERIAIS E MÉTODOS	28
Considerações gerais	28
Obtenção do resíduo base	28
Obtenção do inóculo	28
Condução do experimento	30
Determinação do volume do biogás produzido	33
Análises da carga poluidora e da eficiência do processo	34
Análise Estatística	35
RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
Caracterização do dejetos bovino bruto e do inóculo EM	37
Análise do substrato e do biofertilizante	38
Alcalinidade e pH	38
Sólidos	40
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	41
Produção de biogás	42
CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Produção de leite no Brasil e no mundo. .	5
Figura 2: Esquema de digestão anaeróbia, evidenciando a ação de bactérias na degradação da matéria orgânica.	11
Figura 3: Rotas de produção de metano.	12
Figura 4: Cozimento do arroz para "captura" do EM.	29
Figura 5: Arroz cozido adicionado em caixa de madeira.	29
Figura 6: Caixa contendo arroz cozido sendo colocada em contato com o horizonte "A" do solo de mata.	30
Figura 7: Colônias instaladas no arroz 15 dias após iniciada a "captura" dos microrganismos.	30
Figura 8: Separação das colônias por cores.	30
Figura 9: As colônias selecionadas sendo cultivadas em caldo de cana.	30
Figura 10: Câmaras biodigestoras envoltas em plástico e mergulhadas em água aquecida pelos componentes do sistema de controle de temperatura.	32
Figura 11: Detalhe do sistema de controle de temperatura	32
Figura 12: Gasômetros utilizados no experimento.	32
Figura 13: Detalhe da régua para quantificação do biogás produzido	32
Figura 14: Esquema do biodigestor de bancada utilizado no experimento	33
Figura 15: Comportamento das pressões relativas do biogás (em mm Hg) nos gasômetros	43
Figura 16: Média de produção acumulada de biogás para os tratamentos, ou seja, substratos com diferentes percentuais de adição de EM, T1 (15%), T2 (10%), T3 (1%) e T4 (0%)	46

RESUMO

BATISTA, Maurílio Duarte, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2014. ***Effective microorganisms (EM) como bioalimentadores na digestão anaeróbia de resíduos de bovinos.*** Orientador: Richard S. Gates. Coorientadores: Cecília de Fátima Souza e Alisson Carraro Borges.

A digestão anaeróbia é um processo microbiano de tratamento de resíduos, o qual consiste numa série de reações sequenciais, onde a matéria orgânica presente no substrato é convertida em um gás combustível; além de um biofertilizante que pode ser usado como adubo em lavouras ou ter um polimento para ser lançado em cursos d'água. Uma das formas mais simples de tratamento anaeróbio é a digestão conduzida em biodigestores, que devido à sua simplicidade e baixo custo de implantação e manutenção, têm sido amplamente utilizados como sistemas de tratamento para águas residuárias agrícolas e agroindustriais. Com a finalidade de diminuir o tempo necessário para o início da digestão e também para melhorar a produção de biogás em biodigestores, faz – se uso de uma cultura de microrganismos, o inóculo ou bioalimentadores, acrescentada aos reatores.. Uma cultura de microrganismos benéficos ao solo foi desenvolvida por um pesquisador e agricultor japonês Teturo Higga. Ele a nomeou *Effective Microorganims* (EM). Muito difundida entre agricultores orgânicos e agroecológicos, ela traz inúmeros benefícios ao solo e à lavoura observados por agricultores e pesquisadores.

Agricultores que utilizam dessa cultura observaram um aumento da degradação da matéria orgânica do solo. Este trabalho teve o objetivo de verificar a utilização do EM como bioalimentador em biodigestores. Foi testado concentrações de EM como inóculo de 15%, 10% e 1% em biodigestores em batelada. Observou – se uma queda da Alcalinidade e do pH com a concentração de EM adicionada. A maior produção acumulada de biogás se deu quando acrescentada 1% de EM ao substrato ($20,6 \text{ L}_{\text{biogás}}/\text{L}_{\text{substrato}}$); assim como a menor redução de Sólidos Totais (28,50%). A maior redução no consumo de Demanda Química de Oxigênio se deu nos tratamentos de menor concentração (53,62% com 1% de inóculo; 79,44% para a testemunha). Concluiu – se este experimento abre precedentes para novas pesquisas que utilizem a cultura como bioalimentador em biodigestores.

ABSTRACT

BATISTA, Maurílio Duarte, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, april, 2014. ***Effective microorganisms (EM) as biofeeders in anaerobic digestion of cattle waste.*** Adviser: Richard S. Gates. Co – advisers: Cecília de Fátima Souza and Alisson Carraro Borges.

Anaerobic digestion is a microbial waste treatment process, which consists of a series of sequential reactions, where the organic matter present in the substrate is converted into a combustible gas, including a biofertilizer which can be used as fertilizer for fields or afterpolishing may be released in waterways. One of the simplest forms of anaerobic digestion treatment is conducted in digesters, which because of their simplicity and low cost of deployment and maintenance, have been widely used as treatment systems for agricultural wastewater and agribusiness. In order to reduce the time required to start the digestion and to improve the production of biogas digesters, a culture of microorganisms, the biofeeder or inoculum, can be added to the reactor. A culture of beneficial soil microorganisms was developed by a Japanese farmer and researcher Dr. Higga. He named this culture Effective Microorganims (EM). Widespread among organic and agroecological farmers, it brings numerous benefits to soil and farming observed by farmers and researchers. Farmers using this culture observed an increase in decomposition of soil organic matter. This study aimed to verify the use of EM as inoculum in digesters. Was observed a drop in alkalinity and

pH at the concentration of MS added. The highest cumulative biogas production occurred when added 1% IN the substrate ($20.6 \text{ L}_{\text{biogas}} / \text{L}_{\text{substrate}}$); well as the smallest reduction of Total Solids (28.50%) The largest reduction in the consumption of chemical oxygen demand occurred in the lower concentration treatments (53.62% with 1% inoculum; 79.44% for the witness). This experiment gives precedent for further research using culture as biofeeder in digesters.

INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da agropecuária brasileira tem-se adotado o confinamento de animais como forma de aumentar a produção e a produtividade, maximizando – se a utilização das áreas necessárias às criações. Isso tem garantido aumento na eficiência de produção. Todavia, com esse incremento na produção, também aumenta a concentração de dejetos, antes diluídos no ambiente. Isso pode acarretar prejuízos à saúde e sanidade humana e/ou animal, bem como ao meio ambiente; tornando necessária a adoção de estratégias para o tratamento adequado dos resíduos advindos da produção agroindustrial.

O tratamento de resíduos de grande carga orgânica como os de origem agropecuária normalmente se dá por meio biológico, tendo em vista que os mesmos são favoráveis aos microrganismos que usam a matéria orgânica como fonte energética para suas atividades vitais. Os sistemas de tratamento biológico, podem ser agrupados em duas diferentes vias de consumo da matéria orgânica: a via aeróbia e a via anaeróbia.

O primeiro sistema de tratamento é caracterizado por uma ampla eficiência de degradação da matéria orgânica, sendo marcado o consumo do oxigênio e da matéria orgânica presentes no meio, e tendo como produtos finais o dióxido de carbono (CO_2) e a massa microbiana (lodo).

O tratamento que acontece via anaerobiose utiliza de um ecossistema de microrganismos interdependentes que se desenvolvem em ambiente sem a presença de oxigênio. Esse tipo de sistema apresenta a desvantagem de ser menos eficiente na remoção da matéria orgânica do resíduo, de necessitar de um tempo maior para uma degradação significativa (partida). Todavia apresenta como vantagem uma

menor produção de lodo e a produção final de um gás composto por metano (CH_4), CO_2 , vapor de água e outros componentes em menor proporção. Esse gás de origem biológica, conhecido como biogás uma vez que sua constituição é em grande parte, de CH_4 , pode ser usado como insumo energético.

Uma das formas de tratamento anaeróbio mais simples é a digestão conduzida em biodigestores. Composto por uma câmara de digestão e um sistema de armazenamento de biogás, o biodigestor tem se difundido muito na agropecuária. A digestão anaeróbia pode ser classificada como um mecanismo de produção de energia limpa e o biogás resultante pode substituir em parte ou no todo a necessidade energética de uma propriedade. O excesso de energia produzido em algumas propriedades ainda pode ser comercializado; a utilização do biogás ou a simples queima também pode gerar créditos no mercado internacional de carbono. Dessa forma, o sistema de tratamento de resíduos pode se tornar uma fonte de renda a mais para a propriedade.

Considerando – se o aspecto ambiental, uma vez tratado em biodigestor, o resíduo ainda não cumpre os padrões mínimos de lançamento em corpos hídricos, sendo necessário um polimento antes do lançamento. Todavia, os nutrientes presentes no resíduo, após o processo, ainda mais concentrados e disponíveis para as plantas, sendo um desperdício tratá-los em vez de usá-los como adubo. O biofertilizante, como é conhecido o efluente de biodigestores tem sido alternativa eficiente de ciclagem de nutrientes, podendo ser usado em qualquer cultura agrícola, em substituição à adubação convencional, aumentando a quantidade de matéria orgânica no solo, melhorando a sua estrutura e a nutrição de plantas.

Levando – se em conta o aspecto biológico da digestão

anaeróbia, uma cultura de microrganismos já consolidada pode diminuir o tempo de partida de um biodigestor, minimizando as instabilidades desse sistema de tratamento. A estabilidade do sistema é necessária para o bom funcionamento do processo de degradação anaeróbia. Assim, quando se acrescenta uma cultura de microrganismos já consolidada (inóculo), ela se junta aos microrganismos já presentes no resíduo, reduzindo o tempo necessário para se ter uma degradação eficiente. Por essa razão, são tratados como benéficos.

A microbiota presente dentro da câmara de biodigestão, seja ela acrescentada pelo resíduo ou por meio de um inóculo tem características próprias que refletirão na eficiência de degradação bem como na quantidade e qualidade energética do biogás.

Um teste bem simples pode ser usado para relacionar o inóculo com o resíduo. A Atividade Metanogênica Específica (AME) ou *Biochemical Methane Potencial* (BMP) consiste na digestão de materiais orgânicos e a mensuração da quantidade de metano produzida. Tal teste é importante para dimensionamento das estruturas necessárias para se obter determinado potencial energético ou para armazenar/consumir a quantidade de gás produzida em um sistema de tratamento anaeróbio. A AME é específica para a relação inóculo – resíduo, ou apenas o resíduo, quanto à obtenção do biogás. Esse teste, pode então indicar se o inóculo é benéfico para a digestão anaeróbia.

O uso de microrganismos benéficos auxilia não só no caso da redução do tempo de partida de sistemas de tratamento, mas pode ser essencial para outros ecossistemas que dependem da relação com a microbiota.

O uso de uma cultura de microrganismos benéficos ao solo foi iniciado pelo agricultor e pesquisador japonês Teturo

Higa, que capturou e cultivou microrganismos de manchas férteis do solo e espalhou-os por toda área agricultável da propriedade, obtendo grandes avanços na produção agrícola. Essa cultura, nomeada de *Effective Microorganisms* (EM) auxilia na absorção de nutrientes por plantas, aumento da produção e degradação da matéria orgânica do solo e na ciclagem de nutrientes.

Pesquisas têm demonstrado a eficiência do EM na melhoria de solos e na redução de doenças da lavoura. Relatos feitos por agricultores familiares ainda confirmam que o EM é eficiente no tratamento de resíduo, tanto em processo anaeróbio quanto aeróbio, degradando resíduos na forma líquida ou sólida.

Apesar dos relatos, existem poucas informações a respeito da utilização de EM em sistemas de tratamento, em especial quando usado como inóculo em biodigestores.

Desta forma, o objetivo dessa pesquisa foi analisar a utilização de EM como inóculo adicionados a substratos a serem degradados em biodigestores, avaliando – se, para isso, as características do biofertilizante gerado, a eficiência de remoção da matéria orgânica e a produção de biogás.

REVISÃO DE LITERATURA

Produção bovina e geração de resíduos

A bovinocultura é um dos principais destaques do agronegócio brasileiro no cenário mundial. O rebanho bovino nacional proporciona o desenvolvimento de dois segmentos lucrativos: as cadeias produtivas da carne e do leite (MAPA, 2013). Ainda conforme o MAPA (2013), o valor bruto da renda gerada por esses dois segmentos é estimado em R\$ 67 bilhões.

A produção mundial de leite vem crescendo ao longo dos anos. Para 2013, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) estimou 1,5% de incremento quando comparado a 2012. A produção brasileira tem acompanhado o crescimento mundial e a necessidade do mercado interno de produtos lácteos: O Brasil é o quinto maior produtor mundial e nos últimos anos a produção nacional cresceu em média, 4,3% ao ano (FIGURA 1). Segundo o último Censo agropecuário realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2010 foram ordenhadas 22.924.914 vacas no Brasil (IBGE, 2010).

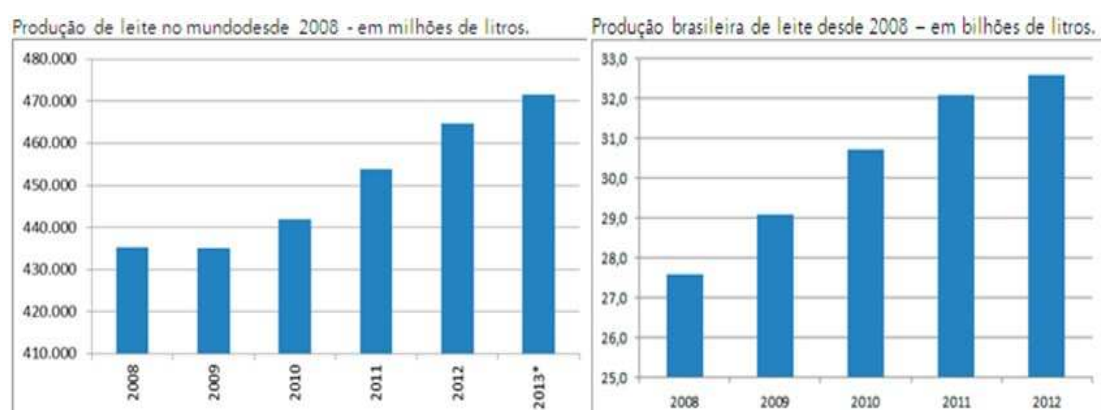


Figura 1: Produção de leite no Brasil e no mundo. Fonte: Pila (2013). *Estimativa

A melhoria do rebanho de cunho leiteiro, a nutrição e o

confinamento são ferramentas usadas para aumento da eficiência produtiva em relação à produtividade por animal, produtividade por área e o custo.

O confinamento de bovinos de leite, por sua vez, aumenta o potencial de poluição advindo da atividade leiteira, uma vez que a concentração de dejetos se torna significativa em uma determinada área. Conforme Matos (2005), uma vaca leiteira (de aproximadamente 400 kg) produz diariamente em excretas o equivalente a 28-32 kg de fezes, estando a produção de fezes mais a urina na faixa de 38-50 kg. Na engorda, os bezerros são alimentados com dietas altamente concentradas, recebendo leite e subprodutos do processamento do leite e produzindo dejetos mais líquidos que os de outros animais. A produção diária de excretas frescas por bezerros é de cerca de 7,5 L.

Mendonça (2009) caracterizou o resíduo de bovinos leiteiros, obtendo demanda química de oxigênio (DQO) de aproximadamente 18000 mg L⁻¹, pH de 7,5; concentração de sólidos fixos totais (SFT) e sólidos voláteis totais (SVT) de, aproximadamente, 30500 e 1200 mg L⁻¹, respectivamente. Ainda segundo o mesmo autor, esses resíduos, quando simplesmente lançados no ambiente sem o devido tratamento, podem gerar impactos desfavoráveis, ocasionando contaminação de difícil reparação nas águas superficiais, subsuperficiais e subterrâneas.

Processo de degradação anaeróbia

Uma das etapas mais importantes de um processo de tratamento biológico é a remoção da matéria orgânica, em virtude do grande impacto que essa pode causar em meios aquosos. Os poluentes são primeiramente adsorvidos nas superfícies dos aglomerados microbianos. Essa remoção é de natureza físico-química. A seguir, dependendo das

características da molécula do poluente, a mesma sofre transformações catalisadas por enzimas excretadas pelos microrganismos e que se localizam na matriz constituinte dos aglomerados microbianos (flocos, filmes e/ou grânulos). Somente depois de modificadas é que essas moléculas podem ser absorvidas pelas células microbianas para serem metabolizadas. A energia e as estruturas moleculares aproveitada possibilitam a produção de novas células, com a co – produção de CO_2 e, no caso de processos anaeróbios, metano. (SANT`ANNA JR, 2010).

A degradação aeróbia pode ser conceituada como um processo de respiração aeróbia, no qual moléculas de substrato são oxidadas a CO_2 utilizando-se, no sistema de transporte de elétrons, o oxigênio molecular como receptor final. Nesse tipo de metabolismo, as moléculas de substrato podem ser oxidadas completamente a CO_2 , e um maior rendimento teórico de ATP pode ser, teoricamente, obtido, o que permite disponibilizar energia para a multiplicação celular. Nesse caso, o acceptor de elétrons tem um potencial de oxirredução bem positivo, assegurando grande diferença de potencial entre doador e receptor final, o que favorece a síntese de ATP (CHERNICHARO, 2007).

A metabolização por via anaeróbia é muito mais complexa. No processo de biodegradação estão envolvidos diferentes grupos microbianos interagindo-se em um ecossistema delicado e balanceado. Por causa da menor diferença de potencial disponível nas reações metabólicas (os receptores de elétrons podem ser nitratos, íon férrico, sulfato, carbonato, e até compostos orgânicos), a energia disponível para o crescimento microbiano é significativamente menor do que aquela do metabolismo aeróbio. Em decorrência, a taxa de crescimento microbiano é menor, podendo ser considerado uma vantagem em sistemas de tratamento em função de

problemas associados ao gerenciamento do excesso de biomassa gerado nos sistemas aeróbios (CHERNICHARO, 2007; SANT'ANNA JR, 2010).

A degradação da matéria orgânica por via anaeróbia apresenta maior grau de complexidade quando comparada à degradação aeróbia por demandar a participação de diferentes grupos microbianos com funções diferenciadas. As principais biotransformações que ocorrem durante a degradação anaeróbia são as que se seguem:

Hidrólise das substâncias e materiais orgânicos complexos

Substâncias de alta massa molar e material orgânico, presente na forma particulada são transformadas em substâncias de menor massa molar pela ação de enzimas hidrolíticas excretadas por diversas espécies microbianas (CHERNICHARO, 2007; SANT'ANNA JR, 2010).

Fermentação ou acidogênese

As substâncias resultantes da etapa de hidrólise são fermentadas, gerando ácidos carboxílicos de cadeia curta, os chamados ácidos voláteis (fórmico, acético, propiônico, butírico, valérico). Nas condições prevalentes no meio (pH, temperatura), esses ácidos se apresentam na forma dissociada, sendo referidos como formiato, acetato, propionato, etc. Diversos gêneros de microrganismos atuam nessa etapa, como os gêneros *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, entre outros (CHERNICHARO, 2007; SANT'ANNA JR, 2010).

Fermentação acetogênica

Essa é uma etapa crítica do processo, sendo conduzida por um grupo de bactérias denominadas acetogênicas, as quais estabelecem uma relação de sintrofia com as arqueias metanogênicas e com as bactérias homoacetogênicas. Nessa

etapa, os ácidos de maior cadeia são transformados em ácidos com apenas um ou dois átomos de carbono (formiato e acetato) com concomitante produção de hidrogênio, essencial para que ocorra a conversão dos ácidos de maior cadeia em acetato e formiato. Estas anaeróbias estritas, são usualmente utilizadas em associação com arqueias metanogênicas hidrogenotróficas, que consomem o hidrogênio em reações sintróficas. A sintrofia pode ser entendida como a colaboração de duas ou mais espécies de microrganismos para reação química que, de outra forma, seria desfavorecida energeticamente; ou como a transferência de hidrogênio entre espécies. Os gêneros mais comuns são *Syntrobacter* e *Syntrophomonas* (CHERNICHARO, 2007; SANT'ANNA JR, 2010).

A transformação de ácidos voláteis em acetato, por exemplo, é uma reação desfavorável, que gera em seu processo o hidrogênio. Para que a biotransformação seja possível, é preciso que o hidrogênio produzido seja consumido em metano por ação das metanogênicas, de modo a deslocar o equilíbrio da equação no sentido da formação de acetato. Portanto é a sintrofia entre organismos de dois grupos microbianos distintos que possibilita que ambos apresentem crescimento, assegurando a viabilidade de produção de acetato a partir de ácidos voláteis (SANT'ANNA JR, 2010).

As bactérias homoacetogênicas consomem hidrogênio e gás carbônico para a produção de acetato. Bactérias do gênero *Clostridium* e *Acetobacterium* são comumente encontradas nas comunidades microbianas em digestores anaeróbios. Outros gêneros de bactérias, apresentam também metabolismo homoacetogênico, como *Acetoanaerobium*, *Acetogenium*, *Acetivumaculum* ou *Treponema*. Algumas bactérias homoacetogênicas podem aceitar outros doadores de elétrons que não o H_2 , como diversos compostos de um

átomo de carbono, açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos, álcoois e algumas bases nitrogenadas. A redução do nitrato também pode ser promovida por algumas espécies (SANT'ANNA JR, 2010).

Metanogênese

Etapa crucial no processo na qual o carbono originalmente presente na matéria orgânica passa a ser constituinte do metano ou do gás carbônico. A obtenção do metano se faz a partir da descarboxilação do acetato e/ou da redução do CO_2 com H_2 , com a atuação das bactérias metanogênicas (CHERNICHARO, 2007).

As metanogênicas, além da grande diversidade morfológica (cocos, bastonetes, cocos irregulares, bastonetes longos e filamentos), também apresentam variedade quanto à composição de suas paredes celulares. Os gêneros mais comuns encontrados em digestores anaeróbios são *Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanobrevibacter*, *Methanosarcina*, *Methanospirillum*, *Methanotrix* (SANT'ANNA JR, 2010).

Sulfatogênese

Essa etapa ocorre paralela à etapa de metanogênese, devido à atuação das Bactérias sulfatorredutoras (BSR), que empregam compostos de enxofre como aceptores finais de elétrons na respiração anaeróbia. Dentre esses compostos, o íon sulfato se destaca por se encontrar em concentrações apreciáveis em alguns efluentes e, sobretudo, nas águas marinhas. São basicamente dois grupos: as que não oxidam acetato (Grupo I) e a que oxidam esse substrato (Grupo II). O produto final da redução do sulfato é o H_2S para as BSR do Grupo I e o sulfeto para as do Grupo II. A disponibilidade energética para essa biotransformação é pequena quando comparada a dos processos que empregam outros aceptores

de elétrons como o nitrato e o oxigênio, mas é suficiente para assegurar o crescimento microbiano (Sant`anna Jr, 2010). Os compostos de enxofre têm uma importância grande nos digestores anaeróbios por conferir característica corrosiva ao biogás, além do mau cheiro.

Os principais gêneros do Grupo I são *Desulfovibrio*, *Desulfomicrobium*, *Desulfobotulus*, *Desulfofutis*, *Desulfotomaculum*. Os do Grupo II são *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfococcus*, *Desulfonema*, *Desulfosarcina* (SANT`ANNA JR, 2010).

Na Figura 2 pode ser verificada cada uma das etapas da digestão anaeróbia. Em cada uma dessas etapas, atuam diferentes grupos microbianos que degradam a matéria orgânica, reduzindo-a no meio, conforme a Figura 3.

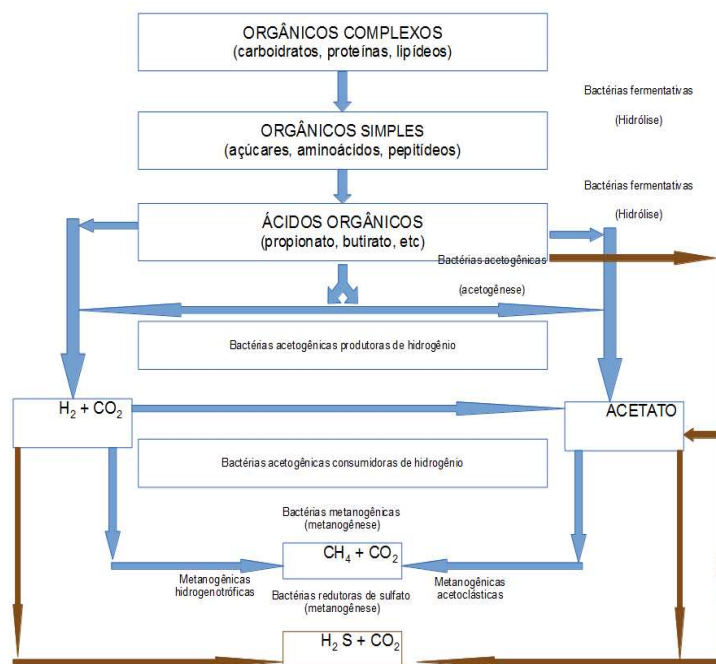


Figura 2:

Esquema de digestão anaeróbia, evidenciando a ação de bactérias na degradação da matéria orgânica. Fonte: Adaptado de Chernicharo (2007).

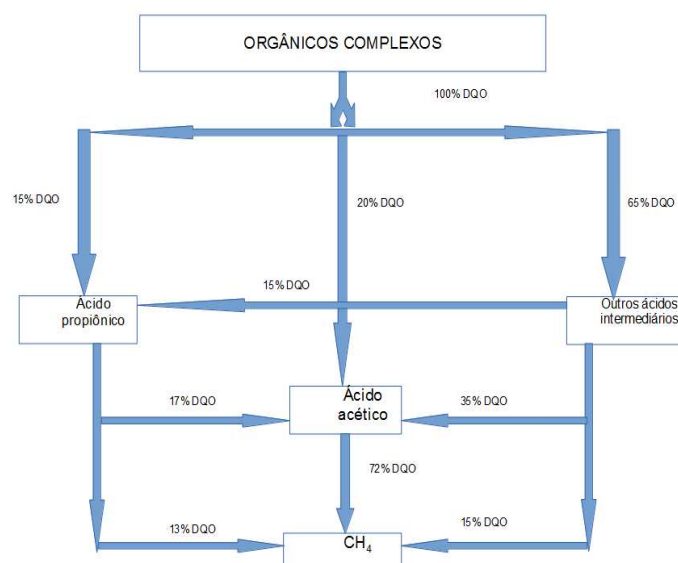


Figura 3: Rotas de produção de metano. Fonte: Adaptado de Chernicharo (2007).

As faixas de temperatura ideais para operação da digestão anaeróbia são a mesofílica (20-42 °C), com ótimo em 35° C, e a termofílica (50-65 °C), com ótimo em 55° C; porém a digestão anaeróbia pode ocorrer em temperaturas mais baixas (< 20 °C), na faixa denominada psicofílica (SANT'ANNA JR, 2010). Liu *et al.* (2009) obtiveram rendimentos maiores de metano a partir da digestão termofílica do que na digestão anaeróbia em temperaturas mesofílicas. Trabalhando em temperaturas mesofílicas, Souza *et al.* (2008) e Chae *et al.* (2008), em trabalhos distintos, obtiveram maiores rendimentos de metano para temperaturas maiores. Castillo *et al.* (1995) obtiveram uma redução no tempo de digestão anaeróbia de resíduo suíno em reatores em batelada, de 240 para 110 dias quando usada a temperatura do meio em 35° C em vez de 25° C.

Spacce (2008) salienta que mudanças bruscas de temperatura podem desequilibrar a relação entre a acidogênese e a metanogênese (produção de acetato e

consumo de H_2). O ideal é que as condições de temperatura fiquem mais ou menos uniformes.

Em ambientes tropicais, normalmente a temperatura ambiente se encontra, em boa parte do ano, na zona mesofílica. Como nesses ambientes a amplitude térmica não é tão significativa, salvo exceções, configura-se mais uma vantagem para o uso da tecnologia do tratamento anaeróbio.

O inóculo

De acordo com Chernicharo (2007), a partida de reatores anaeróbios pode ser definida como o período transiente inicial, no qual ocorre o crescimento microbiano e é marcado por instabilidades operacionais. Com a finalidade de diminuir o tempo de partida característico de sistemas anaeróbios, podem ser usados os inóculos. O inóculo consiste em um material capaz de fornecer uma população adicional de microrganismos típicos da biodigestão (XAVIER & LUCAS JUNIOR, 2010).

A partida do sistema pode ser conseguida de três formas distintas, conforme Chernicharo (2007):

- Utilizando-se lodo de inóculo adaptado ao esgoto a ser tratado: A partida do sistema procede-se de forma rápida e satisfatória;
- Utilizando-se lodo de inóculo não adaptado ao esgoto a ser tratado: A partida do sistema passa por um período de aclimação, incluindo fase de seleção microbiana;
- Sem a utilização de inóculo: Considerada a forma mais desfavorável, uma vez que haverá a necessidade de se inocular o reator com os próprios microrganismos contidos no afluente. Como a concentração de microrganismos é muito pequena, o tempo demandado para a retenção e seleção de uma elevada massa

microbiana pode ser bastante prolongado (da ordem de 4 a 6 meses).

Queiroz (2003) afirma que a quantidade de inóculo adicionada influencia positivamente na produção de biogás e permite significativa redução no tempo de retenção hidráulica. Boopathy (1987) verificou que inóculos apresentam diferentes condições de nutrientes, pH, bem como organismos metanogênicos viáveis, propiciando efeitos distintos sobre a digestão anaeróbia. Fantozzi & Buratti (2009) obtiveram valores maiores de redução de carbono em resíduo tratado em biodigestor com inóculo de esterco de pocilga digerido anaerobicamente quando comparado com inóculo feito com líquido ruminal.

Teoricamente, a degradação da matéria orgânica ao final de uma batelada em digestão anaeróbia não deveria produzir volumes de biogás diferentes em biodigestores com ou sem inóculo. O inóculo apenas acelera o processo de degradação da matéria orgânica presente no resíduo, não apresentando diferenças das quantidades de biogás, e sim do tempo. O crescimento e o estabelecimento de uma população microbiana é demorado. Assim, acrescentar uma população microbiana ao biodigestor reduz o tempo necessário para iniciar a degradação anaeróbia do resíduo, desde que essa população esteja “adaptada” às condições do meio.

Vários são os experimentos em que inóculos são adicionados ao sistema com a finalidade de obter parâmetros de dimensionamento de biodigestores. Moorhead & Nordstedt (1993) observam que existe sim uma relação direta entre a concentração de inóculo e a produção de biogás nos 15 primeiros dias da digestão de resíduos de plantas com alto teor de nitrogênio; porém, essa relação não é observada em plantas com teores de nitrogênio baixos e, ao final de 30 dias, a produção de metano não difere em nenhum dos dois tipos de

resíduos usados. Xavier & Lucas Junior (2010) confirmam que o tempo de obtenção de biogás para queima reduz drasticamente (de 30 para até 4 dias) quando adicionado inóculo aos biodigestores.

Todavia, cada população adicionada ao meio possui características próprias que vão influenciar na degradação e consequentemente, na produção de biogás. Raposo *et al.* (2006) obtiveram ligeira variação no coeficiente de rendimento de metano para diferentes taxas de concentração de inóculo. Liu *et al.* (2009) observou que uma maior concentração de inóculo resultou em maior quantidade de metano produzida. Carneiro *et al.* (2008) também obtiveram maior rendimento de metano para determinada concentração de inóculo. Além disso, estudos apontam que o incremento de percentagens de inóculo acima de 15% refere – se à digestão anaeróbia do próprio inóculo, e não do resíduo utilizado no substrato. Tais experimentos demonstram uma estreita relação entre o resíduo digerido e as características quantitativas e biológicas da população bacteriana acrescentada.

Biogás e Atividade Metanogênica Específica

A digestão anaeróbia proporciona a redução da matéria orgânica presente no resíduo, redução do odor e, ainda, a produção de um gás combustível como um produto secundário. O biogás, produto da digestão anaeróbia, é uma mistura de gases contendo basicamente metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2), vapor de água, hidrogênio, ácido sulfídrico (SPEECE, 2008). A quantidade de biogás produzida e a composição desse biogás vai depender de fatores como a origem dos resíduos digeridos, a eficiência de degradação, a população microbiana do digestor, a carga a ser aplicada. Os valores citados na literatura de conversão do material biodegradável em metano, pela digestão anaeróbia, variam de 50% a 80% (CHENICHARO, 2007; MOGAMI, 2005). O poder

calorífico médio do biogás, por sua vez, é de 6 kWh.m^{-3} de biogás (NOGUEIRA, 1992).

Outras reações podem ocorrer ao mesmo tempo que a produção de metano, produzindo gases que influenciam no volume total e na composição do biogás em sistemas anaeróbios. O sulfato, por exemplo, pode ser convertido em gás sulfídrico, e o nitrato pode ser convertido em nitrogênio gasoso (SPEECE, 2008).

A solubilidade relativa do dióxido de carbono em relação à do metano pode causar um incremento da quantidade de metano no biogás. O CO_2 possui constante de Henry igual a 1,2, enquanto que para o metano esse valor é igual a 27,2 (numa mistura ideal, à 25°C), o que significa que o metano é aproximadamente 22,7 menos solúvel que o CO_2 nas mesmas condições; dessa forma, em comparação com o metano, o CO_2 remanescente na solução aquosa é maior, melhorando a qualidade do mesmo. Esse efeito é mais percebido quando a quantidade de biogás produzida é pequena (SPEECE, 2008).

O metano (CH_4) é um gás incolor e inodoro, formado biologicamente ou produzido industrialmente pela reação entre o monóxido de carbono e o hidrogênio. Seu principal uso é para combustível, no entanto, também pode ser utilizado como composto químico para indústria de amônia, metanol e ácido acético. Em altas pressões, pode se apresentar na forma de líquido ou pode se apresentar na forma hidratada. O CH_4 comprimido ou liquefeito é similar ao gás natural comprimido (GNC) ou o gás liquefeito de petróleo (GLP), usado em veículos (SPEECE, 2008).

O gás natural é uma mistura de gases, principalmente de metano, butano e propano. Devido à semelhança, o biogás depois de purificado, torna-se compatível com os motores e queimadores de gás natural. O rendimento do biogás

compreende 52 a 97% em volume em relação ao gás natural. Esse rendimento reduzido é devido as dificuldades na purificação do biogás. Do biogás é retirado vapor de água, dióxido de carbono, além de ácidos, que podem causar corrosão; porém os métodos usados para a filtragem não são perfeitos. Além do mais, o gás natural possui outros hidrocarbonetos que possuem maior poder calorífico que o metano (SPEECE, 2008).

Quando se define a quantidade de biogás a ser queimada, é preciso definir a quantidade de determinado substrato necessária para se obter a energia desejada. Por outro lado, é interessante saber a quantidade de energia que pode ser obtida a partir da digestão anaeróbia de um resíduo. A capacidade máxima de produção de biogás de um substrato é chamada de “Atividade Metanogênica Específica” (AME) ou *Biochemical Methane Potential* (BMP). Os testes de AME foram desenvolvidos inicialmente nos anos setenta e, desde então, têm sido feitos de várias formas para fins diferentes (RINCÓN *et al*, 2010). A abordagem por meio da AME é bem simples: um substrato orgânico é misturado a um inóculo anaeróbio em condições definidas e o gás liberado é quantificado por uma forma específica até que a sua produção cesse.

Existem inúmeras metodologias para se definir a AME, entre teóricas e experimentais. As teóricas consistem em levantar os nutrientes do material a ser decomposto e compará-los com a demanda necessária para bactérias anaeróbias que poderiam digerir esses compostos. Os métodos experimentais consistem em digerir um volume do material em condições ambientais controladas, a fim de que a produção de biogás seja a única a ser determinada. Uma vez obtido o volume de biogás produzido, ele é submetido a análises e obtém-se a percentagem de metano do biogás.

Não existe um consenso da comunidade científica sobre uma metodologia padrão para obter a AME. Diversas técnicas têm sido usadas para a determinação da AME. O índice de respiração (RI) e índice de produção de biogás (GB21), um teste de AME feito aos 21 dias de incubação, são bem correlacionados. Métodos enzimáticos podem acelerar o tempo de degradação, como no caso dos resíduos urbanos. Modelos baseados na composição dos materiais também podem ser usados. Nesses casos, o valor de AME é sempre superestimado, já que a matéria orgânica não biodegradável também entra nos cálculos, que são baseados nas quantidades químicas elementares (C, H, O, N) (LESTEUR *et al.*, 2011).

Comparando modelos teóricos de obtenção da AME com os obtidos experimentalmente, Labatut *et al.* (2011) obtiveram resultados teóricos maiores, com erros maiores para os substratos menos degradáveis. Os erros foram justificados pela não consideração da digestão nos modelos teóricos. Todavia, quando corrigidos, os dados teóricos apresentam alta concordância com os dados experimentais.

Os métodos experimentais para se obter a AME variam quanto a forma de medição do biogás. Conforme Aquino *et al.* (2007), o biogás pode ser medido através de métodos manométricos ou volumétricos. Os primeiros, baseiam-se na medição da pressão exercida sobre um sensor acoplado ao frasco de reação. Dependendo da configuração do sistema, a medida pode ser devido à mistura de gases do biogás, estabelecendo-se uma calibração do sistema entre a pressão medida e a quantidade de metano, por conseguinte, a AME. A vantagem desse método é a possibilidade de automação do processo, estabelecendo em tempo real a produção de biogás. Os métodos volumétricos se baseiam na determinação do volume de biogás ou metano produzido. Pode-se medir o

volume e a composição do biogás; a medição apenas da composição do biogás ou a medição direta do volume de metano.

Labatut *et al.* (2011), compararam o potencial de produção de metano em 175 ensaios e concluíram que substratos ricos em lipídeos e carboidratos de fácil digestão produzem maiores valores de AME que aqueles de materiais mais recalcitrantes.

Gunaseelan (2004) obteve rendimentos diferentes de metano para partes diferentes da mesma espécie ao analisar resíduos de frutas. Segundo esse autor, as frutas tiveram valores acima de 0,3 L de metano (CH_4) para cada grama de sólidos voláteis totais (SVT), enquanto as cascas apresentaram rendimento de metano próximo ao da celulose.

Ergüder *et al.* (2001) usando soro de leite em reator anaeróbico UASB conseguiram 424 mL de CH_4g^{-1} de DQO com 2-3 dias de tratamento da água residuária, alcançando redução de 95-97% da DQO inicial. Usando cama de frango como substrato, Costa *et al.* (2012) obtiveram 145 L de $\text{CH}_4\text{kg}^{-1}$ de SVT digeridos. Já Souza *et al.* (2005) usaram dejetos de suínos na fase de terminação e conseguiu 136 L de biogás kg^{-1} de esterco. Souza *et al.* (2008) obtiveram até 1,4 L de metano por volume útil do biodigestor por dia.

Outro fator a ser observado, é o teor de sólidos totais presentes nos reatores. Conforme Mogami (2005), a concentração de Sólidos Totais em biodigestores em batelada para a biodigestão de dejetos animais é de 8%.

O tratamento anaeróbico de resíduos

O processo anaeróbico se apresenta como uma alternativa viável para o tratamento de resíduos por apresentar baixo custo de implantação, ter elevada sustentabilidade, relacionada à pouca dependência de energia

para sustentá-lo; ter um sistema operacional simples, de manutenção e controle fáceis; ter baixo custo de operação; adequada eficiência de remoção de diversos poluentes; pouco ou nenhum problema de disposição do lodo gerado; flexibilidade de expansão futura; possibilidade de aplicação em pequena escala; fluxograma simplificado; elevada vida útil; ausência de transtornos à população vizinha; possibilidade de recuperação de subprodutos úteis, como a fertirrigação de culturas agrícolas e energia (CHERNICHARO, 2007).

Em princípio, todos os compostos orgânicos podem ser degradados pela via anaeróbia, sendo que o processo se mostra mais eficiente e mais econômico quando os dejetos são facilmente biodegradáveis. Por isso, a digestão anaeróbia tem sido largamente usada para tratamento de resíduos sólidos, culturas agrícolas, dejetos animais, efluentes de indústrias agrícolas, alimentícias e de bebidas em todo o mundo (CHERNICHARO, 2007).

Dentre as vantagens do tratamento anaeróbio estão a baixa produção de sólidos, baixo consumo de energia, baixos custos de implantação e operação, tolerância a altas cargas orgânicas e possibilidade de operação com altos tempos de retenção de sólidos e baixos tempos de detenção hidráulica. As desvantagens do sistema estão na pouca remoção de nutrientes e o tempo de partida (tempo necessário para que a degradação da matéria orgânica seja significativa), que pode ser lento na ausência de sementeira (CHERNICHARO, 2007).

Biodigestores

Uma das formas de tratamento anaeróbio mais simples é a digestão conduzida em biodigestores. Conforme Portes (2005), o sistema consiste, basicamente, de um tanque de fermentação anaeróbia, onde são degradadas matérias orgânicas frescas, produzindo-se o biogás, que é armazenado

em um gasômetro. Além do biogás, ao final do processo, tem – se ainda como subproduto o biofertilizante. Devido à sua simplicidade e baixo custo de implantação e manutenção, os biodigestores têm sido amplamente utilizados como sistemas de tratamento para águas residuárias agrícolas e agroindustriais.

A implantação de biodigestores para tratar resíduos, produzir biogás e biofertilizante teve início na Índia. A primeira unidade de biodigestão foi construída em Bombaim em 1908. A China iniciou seu programa de instalação de biodigestores na década de 1950; o Brasil começou a instalar biodigestores na década de 1970, e tem sido construídos números significativos de biodigestores rurais. Apesar das inúmeras vantagens, a instalação de biodigestores tem propósitos diferentes em cada lugar: na China, o biofertilizante é o principal objetivo; nas Filipinas e na Tailândia, pretende-se o tratamento de resíduos e na Índia, busca – se a energia do biogás (PORTES, 2005).

Os biodigestores são classificados conforme sua complexidade, seu dimensionamento e sua alimentação; podendo variar de país para país, dependendo das informações e pesquisas para as situações específicas. Na construção das estruturas pode-se usar alvenaria, concreto, pedras, aço, materiais plásticos, dentre outros. Em todos os diversos tipos de biodigestores, procura-se a impermeabilização do solo onde será disposto o resíduo, a criação de condições anaeróbias de digestão e a estanqueidade do reservatório onde será armazenado o biogás produzido (PORTES, 2005).

Os biodigestores podem ser classificados quanto ao formato em horizontais (comprimento maior no sentido horizontal) ou verticais (comprimento maior no sentido vertical); quanto à alimentação em contínuo (onde existe uma

entrada constante do material a ser digerido e uma saída constante de biofertilizante) ou em batelada (onde a entrada da carga acontece em uma única vez, e o biofertilizante é obtido ao término da biodigestão anaeróbia).

O dimensionamento de biodigestores pode ser feito pela demanda de biogás ou pela quantidade de resíduo a ser tratada. Para o primeiro caso, as relações de consumo de combustível são feitas com o equivalente energético do biogás a ser consumido em relação a outros combustíveis. Um lampião gasta em torno de $0,07 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ de biogás; um motor usa em torno de $0,40 \text{ m}^3 \cdot \text{HP}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ de biogás; para o cozimento, é necessário $0,23 \text{ m}^3 \cdot \text{pessoa}^{-1}$. Quando a pretensão é tratar uma determinada quantidade de resíduo, o dimensionamento se dá pela quantidade de sólidos totais do resíduo. O biodigestor deve ser mantido com sólidos totais (ST) entre 7% e 9% (COMASTRI FILHO, 1981).

Effective Microorganisms (EM)

O uso da cultura de microrganismos benéficos para o solo foi iniciado na década de 70 pelo horticultor e pesquisador japonês Dr. Teruo Higa. Consiste basicamente em capturar e selecionar microrganismos de manchas férteis do solo e espalhou-os por toda a área agricultável da propriedade, obtendo grandes avanços na produção agrícola. Ele nomeou a cultura como “*Effective Microorganisms*” ou “Microrganismos Eficientes” (EM). Atualmente, existem várias formas de EM, comerciais ou não, com promessas de melhoria do solo, do rendimento das culturas e do aumento do controle biológico de doenças (RODRIGUEZ *et al.*, 2011).

A tecnologia se difunde muito entre agricultores orgânicos e agroecológicos do mundo, que a usam no controle biológico de doenças, no crescimento e desenvolvimento de plantas, na recuperação de áreas degradadas, no combate ao

mau cheiro em sistemas de tratamento de resíduos sólidos (compostagem) e líquidos (lagoas, fossas sépticas), na limpeza de instalações (ANDRADE, 2011). Tais conhecimentos populares normalmente difundidos por ONGs e outras Organizações populares de tecnologia social tem tido comprovada eficácia por pesquisas na área.

Hu & Qi (2013) afirmam que, em experimentos a longo prazo, o uso de EM associado à adubação orgânica aumenta significativamente a eficiência de fontes orgânicas de nutrientes para grãos de trigo. Eles afirmam que a matéria orgânica (MO) no solo libera alguns nutrientes no solo, aumentando a concentração de P e K. Todavia, nos tratamentos com EM, foi observada uma maior concentração de N, P e K disponíveis quando comparados aos sistemas que usaram o composto convencional, o que caracteriza uma maior fertilidade do solo.

Avaliando uma cultura de algodão em curto período de tempo, Khaliq *et al.* (2006) não obtiveram aumento significativo da produção aplicando apenas a MO ou apenas EM no solo, porém a associação dos dois houve um aumento de 23% no rendimento em relação à MO isoladamente. Quando associado à adubação sintética, o EM apresentou um aumento de 14%, baixa, quando comparado à adubação com MO. Segundo os autores, esse resultado já era esperado, uma vez que o EM é uma cultura de microrganismos que podem responder bem apenas na presença de quantidade suficiente de MO.

Outro efeito positivo do EM sobre o solo foi identificado por Bajawa *et al.* (1999). Foi observado que a aplicação de EM no solo propicia aumento na quantidade de micorrizas, simbiote importante na absorção de nutrientes por plantas. Os autores ainda relacionaram o EM a uma diminuição da alelopatia, que impede o crescimento e desenvolvimento de

plantas de espécies diferentes em um mesmo ambiente. O EM auxilia na diversificação do ambiente do solo e isso se reflete no aumento da absorção de nutrientes pelos vegetais, melhorando a cultura como um todo. Esse efeito prático é citado como uma das vantagens da aplicação do EM por agricultores familiares como citado por Andrade (2011) e por Higa & Parr (2008). Esse é um provável motivo do aumento da MO do solo, bem como o aumento de produtividade observado por agricultores e pesquisadores em todo o mundo. Conforme Higa & Parr (2008), a integração entre os elementos do solo é essencial para a produção de forma sustentável.

O uso de uma grande variedade de espécies de microrganismos permite um melhor resultado quando comparada a introdução de uma única espécie. Isso se deve à dificuldade em reproduzir resultados que só funcionam em condições específicas. Os resultados obtidos no solo ao se introduzir uma cultura dessa forma dependente das condições do solo e da microflora que existe nele. Ao utilizar uma cultura rica em espécies e que possa trabalhar em conjunto para o benefício do solo, pode-se obter resultados mais consistentes. A rizosfera e a diversidade no solo propiciam um ecossistema que permite o crescimento e o desenvolvimento das plantas, a harmonia com insetos e fungos, produzindo substâncias bioativas. O primeiro resultado disso é o aumento da conversão da energia solar em MO, dando maior qualidade ao solo e maior produtividade agrícola. Resultados melhores poderão ser obtidos com o tempo, e poderão variar conforme as características do ambiente e as interações feitas com o EM (HIGA & PARR, 2008).

A associação de EM com outras espécies pode trazer outros benefícios para a cultura, além da maior absorção de nutrientes. Beevi & Quadri (2010) também utilizaram uma cultura de microrganismos obtida em uma pequena

propriedade em associação com outros fungos para controle biológico de doenças causadas por *Fusarium sp* em amoreiras. Houve tratamentos com até 70% da redução do *Fusarium sp*, com consequente melhoria das condições do ambiente do solo.

Higa & Parr (2008) prevê esse tipo de comportamento. Segundo esses autores, o equilíbrio biológico propicia melhores condições de desenvolvimento da vida do solo que por sua vez propiciará maior produção agrícola quando comparado com o sistema convencional agropecuária. Enxergar o solo como um ecossistema muda o foco do agricultor. Caso ele garanta uma maior diversidade e maiores conteúdos de MO no solo, ele poderá ter, de forma natural, um resultado positivo que irá beneficiá-lo, em vez de tentar alcançá-lo de forma artificial, aumentando o custo de produção e podendo causar prejuízos ao meio ambiente. Maior diversidade de cultivos e biomassa complexa também proporcionarão maior microbiota do solo. As alterações orgânicas no solo provocadas pela adição de diferentes tipos de biomassa também influenciam positivamente na variedade de microrganismos pois cada um desses resíduos possuem a sua própria microbiota nativa, que poderão ser benéficos ao sistema.

Tang *et al.* (2009) observaram uma maior atividade da microbiota em solo contaminado por poluentes de petróleo quando usado o EM associado ao azevém. Os autores relatam aumento de até 17% na degradação de hidrocarbonetos em comparação ao controle. Parece haver resposta positiva para a associação de EM com tratamentos biológicos de resíduos, com consequente melhoria do ambiente. Agricultores familiares citados por Andrade (2011) relatam aumento da degradação da MO do solo, mencionam “limpeza” lagoas e degradação de lixo, com a aplicação do EM.

Namsivayam *et al.* (2011) avaliaram o efeito do EM em esgoto doméstico sob condições padrão, por meio dos parâmetros Alcalinidade, dos Sólidos Dissolvidos Totais, Demanda Bioquímica de Oxigênio e Demanda Química de Oxigênio, obtendo redução em todos eles. Por outro lado, os autores obtiveram um aumento do total da população bacteriana no sistema, indicando que o EM tem potencial para melhorar a eficácia de tratamento de esgotos. Szymanski & Patterson (2003) monitoraram tanques sépticos e obtiveram redução significativa do lodo após aplicação do EM. Shalaby (2011), afirma que a criação de um ambiente antioxidante por EM auxilia na separação sólido – líquido, que é a base de limpeza da água. Conforme esse autor, um dos principais benefícios da utilização do EM é a redução do lodo em instalações de tratamento de resíduos. O tratamento do lodo pode ser tão custoso quanto o tratamento do resíduo.

Outro fator relevante no tratamento de resíduos observado por Szymanski & Patterson (2003), relatado por Andrade (2011) é a redução do mau cheiro. Freitag (2000) também relata o uso de EM para controle de odores em instalações de suínos e frangos de corte nos Estados Unidos. Tais ocorrências podem estar relacionadas a menor produção de gás sulfídrico e amônia em ambientes com alta concentração de MO.

Recentemente o EM tem sido usado em larga escala na agropecuária. Andrade (2011) relata que agricultores familiares o usam para melhorar o solo. Segundo esse autor, o uso do EM acelera a degradação da matéria orgânica bruta no solo e a germinação de sementes; nas lavouras, é usado em pulverizações; em lagoas, é usado para a descontaminação da água; em aterros sanitários, é aplicado sobre o lixo; nas instalações para animais, é aplicado sobre o resíduo para evitar maus odores e também é usado na limpeza.

Estes agricultores usam uma forma não comercial de EM, denominada “método caseiro de captura dos microrganismos e de preparo do EM/solo”, onde as colônias de microrganismos são obtidas nos solos de uma mata próxima, “capturadas” usando-se arroz cozido como meio de cultura e replicadas em caldo de cana ou melaço, em condições anaeróbias. Conforme o autor, 700 g de arroz é o bastante para produzir até 3L da cultura. A facilidade de preparo e o baixo custo é o que torna o EM uma tecnologia ainda mais ecológica e acessível.

A observação dos agricultores que utilizam as culturas replicadas pelo “método caseiro de captura dos micro-organismos e de preparo do EM/solo” tem demonstrado um potencial para tratamento de resíduos. Apesar disso, na literatura científica, não se encontrou referência sobre o uso desse método no tratamento de resíduos.

Dessa forma, com a realização da presente pesquisa, objetiva-se, de forma inédita, desenvolver uma metodologia específica para formulação de inóculo de effective microrganims (EM) e para determinação do percentual adequado de adição do mesmo para ser utilizado como bioalimentador na digestão anaeróbia de dejetos de bovinos. Assim, espera-se a difusão, no meio científico, acerca do emprego do EM com tal finalidade, ou seja, na melhoria no processo de tratamento de resíduos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Considerações gerais

O experimento foi conduzido em biodigestores de bancada (escala laboratorial) operando em batelada, no Laboratório de Biodigestão Anaeróbia do Departamento de Engenharia Agrícola (DEA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG.

Obtenção do resíduo base

O resíduo, base para a digestão anaeróbia, foi obtido com a coleta de fezes frescas de bovinos adultos em fase de lactação, confinados na Unidade de Bovinocultura de Leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Esse resíduo bruto foi coletado em um mesmo dia, homogeneizado e caracterizado por meio de análises de Sólidos Totais (ST), Sólidos Voláteis Totais (SVT) e Sólidos Fixos Totais (SFT).

Para que a concentração de sólidos fosse adequada à digestão anaeróbia, acrescentou-se água no resíduo bovino bruto até atingir 8,0% de ST, tendo assim o substrato usado nos biodigestores.

Obtenção do inóculo

O EM usado como inóculo foi obtido conforme o “Método Caseiro de Captura dos Microrganismos e de Preparo do EM/solo” descrito por Andrade (2011).

Foram cozidos 750 g de arroz, sem sal ou tempero (Figura 4) os quais foram adicionados em um recipiente (caixa) de madeira cuja tampa era vazada (Figura 5).

O recipiente com o arroz cozido foi levado a uma mata

e a parte vazada do recipiente foi colocada em contato com o horizonte “A” do solo, 2,5 cm abaixo da serrapilheira (Figura 6).

Quinze dias depois o recipiente foi recolhido e levado ao laboratório para proceder – se a seleção dos microrganismos que seriam usados no preparo do EM (Figura 7). As colônias de microrganismos com cores em tons de preto, cinza e branco foram descartadas, conforme a recomendação de Andrade (2011) (Figura 8).

As colônias não rejeitadas foram cultivadas em embalagens de 1,5 L, contendo 1,0 L de caldo de cana para que tenham espaço dentro do recipiente para o biogás produzido pelos microrganismos (Figura 9). A cada dois dias, o gás produzido pelos microrganismos durante o seu crescimento e desenvolvimento populacional era liberado, e ao término de 18 dias, a cultura não apresentava escape de gás e, conforme Andrade (2011), estava pronta para ser usada.



Figura 4: Cozimento do arroz para "captura" do EM.



Figura 5: Arroz cozido adicionado em caixa de madeira.



Figura 6: Caixa contendo arroz cozido sendo colocada em contato com o horizonte "A" do solo de mata.



Figura 7: Colônias instaladas no arroz 15 dias após iniciada a "captura" dos microrganismos.

Figura 8: Separação das colônias por cores.

Figura 9: As colônias selecionadas sendo cultivadas em caldo de cana.

Condução do experimento

No ensaio de digestão anaeróbia, foram utilizados 12 biodigestores de bancada (escala laboratorial) operando em batelada, instalados no Laboratório de Digestão Anaeróbia (LDA) do Departamento de Engenharia Agrícola da UFV.

Como ainda não existia um parâmetro para a quantidade de EM a ser usada em biodigestores em batelada como inóculo, optou – se por utilizar concentrações altas e baixas de inóculo nos substratos. Foram utilizados quatro tratamentos; sendo um primeiro com 15% de inóculo de EM (T1); um segundo com 10% (T2) de EM, um terceiro com concentração menor, de 1% de inóculo (T3) e um branco, com 0% de EM (T4).

Em cada tratamento foram utilizadas três repetições. A tomada de dados foi feita diariamente, até que a produção de biogás cessasse. O tempo de digestão do substrato foi de 99 dias.

Como câmaras de biodigestão, foram utilizados recipientes de vidro com capacidade total para 3,1 L e capacidade útil de 2,0 L com tampa de PVC, aos quais foram adaptadas mangueiras com diâmetro interno de 8 mm, que canalizaram o biogás aos gasômetros.

As câmaras de biodigestão foram envoltas com material plástico escuro, que impediu a entrada de luz, e imersas em uma caixa d'água (Figura 10) contendo um sistema de aquecimento para controle da temperatura (Figura 11), que variou de 34,1 a 35,1 °C, conforme recomendado por Souza et al. (2005).



Figura 10: Câmaras biodigestoras envoltas em plástico e mergulhadas em água aquecida pelos componentes do sistema de controle de temperatura.



Figura 11: Detalhe do sistema de controle de temperatura

Cada biodigestor tinha um gasômetro independente com volume de 4 L (Figura 12). Os referidos gasômetros foram confeccionados com tubos de PVC de 100 mm. Régua graduadas foram fixadas nas superfícies externas dos mesmos para que se pudesse quantificar o biogás produzido (Figura 13). Os gasômetros foram imersos em recipientes de PVC contendo uma camada de óleo, buscando garantir a estanqueidade do sistema. Na Figura 14 está a representação esquemática do biodigestor de bancada utilizado no experimento.



Figura 12: Gasômetros utilizados no experimento.



Figura 13: Detalhe da régua para quantificação do biogás produzido.

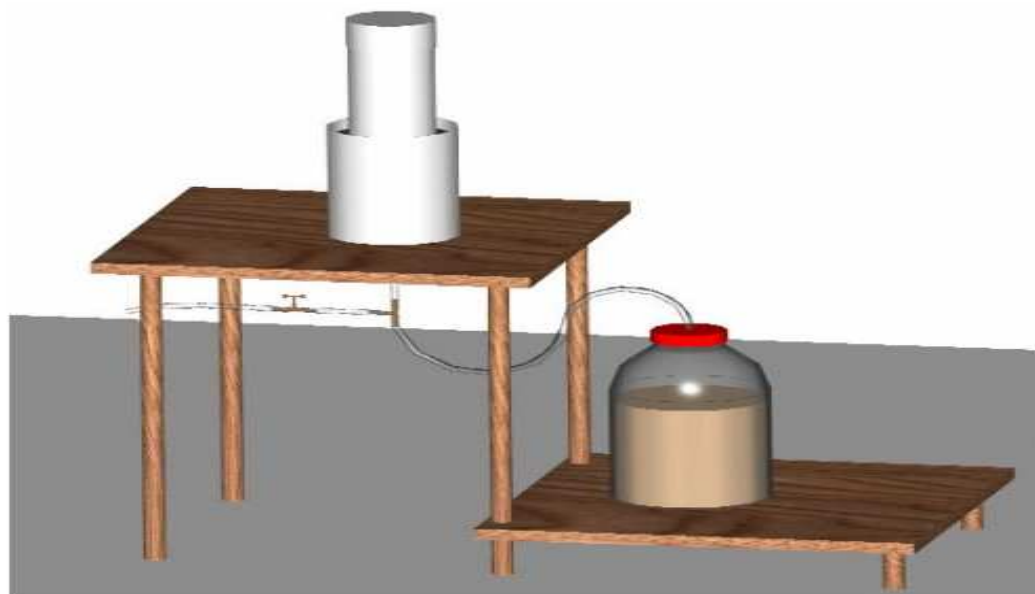


Figura 14: Esquema do biodigestor de bancada utilizado no experimento. Fonte: Inoue (2008).

Determinação do volume do biogás produzido

Para a determinação do volume de biogás produzido fez-se a leitura diariamente, no horário das 9:00 h, do deslocamento da régua e da pressão interna dos gasômetros, por meio de um manômetro digital da marca Kimo. Ao mesmo tempo, foi averiguado, por meio de um termômetro de mercúrio, a temperatura do ar ambiente para que se pudesse corrigir o volume de biogás para 1 atmosfera e 20° C, conforme a metodologia empregada por Caetano (1985), resultante da combinação das leis de Boyle e Gay – Lussac:

Equação 1: Metodologia para cálculo do volume de biogás produzido.

$$V_2 = \frac{P_1 V_1 T_2}{T_1 P_2}, \quad (\text{Equação 1})$$

onde:

P_1 = Pressão do biogás medida no gasômetro no momento da leitura;

P_2 = Pressão atmosférica de referência para obtenção do

volume de biogás corrigido (10322,72 mm H₂O);

T₁= Temperatura do ar medida (K);

T₂=Temperatura de referência para obtenção do volume de biogás corrigido (293,15 K);

V₁=Volume de biogás medido no momento da leitura (L);

V₂=Volume de biogás corrigido (L).

Análises da carga poluidora e da eficiência do processo

Para o dejetos bovino bruto foram realizadas análises da concentração de Sólidos Totais (ST), Sólidos Fixos Totais (SFT), Sólidos Voláteis Totais (SVT). Para o inóculo EM, além das análises de Sólidos Totais, Sólidos Fixos Totais e Sólidos Voláteis Totais, foram determinados o pH e Demanda Química de Oxigênio (DQO). As análises de Demanda Química de Oxigênio foram realizadas no Laboratório de Análise da Água (LQA) do Departamento de Engenharia Agrícola (DEA) da UFV; as análises de Sólidos Totais, Sólidos Fixos Totais, Sólidos Voláteis Totais, e pH foram feitas no Laboratório de Digestão Anaeróbia do Departamento de Engenharia Agrícola (DEA) da UFV.

Para o substrato, foram feitas análises de pH, alcalinidade e Demanda Química de Oxigênio.

Para o efluente da digestão anaeróbia (biofertilizante) foram feitas análises de ST, pH, alcalinidade e DQO.

Os ST foram obtidos por meio da secagem de 50 g de amostra do material úmido em estufa a 105 °C ± 2°C por período de 24 h. Transcorrido esse tempo, a amostra foi novamente pesada e, por diferença, obtido a porcentagem de sólidos totais da amostra.

O material resultante da estufa foi adicionado a mufla a

550 °C por três horas. O material incinerado em mufla foi pesado e obtido a porcentagem de ST.

A diferença entre ST e SFT consistiu nos valores de SVT.

As análises de DQO seguiram o método de fluxo aberto, a partir da digestão química com dicromato de potássio em meio ácido.

O pH foi medido por meio de um potenciômetro digital, conforme metodologia descrita por Inoue (2008); e a análise de Alcalinidade foi feita acrescentando – se ácido sulfúrico à amostra, até que esta chegasse a um pH de 4,2; com resultado expresso em mm de CaCO_3 .

A avaliação da eficiência do processo foi realizada com determinações com base nas reduções de ST e da DQO, a partir das determinações feitas antes e depois do processo de biodigestão anaeróbia. As análises foram feitas utilizando-se de amostras coletadas no afluente (substrato) e no efluente (Biofertilizante) gerado a partir do processo.

Análise Estatística

O experimento foi montado no Delineamento Inteiramente Casualizados (DIC), parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os tratamentos com três repetições e nas subparcelas os tempos (dias de digestão). Cada tratamento foi aplicado para um ciclo completo de produção de biogás em batelada.

Para avaliar o efeito do EM como inóculo foram realizadas análises de variância e aplicados de teste de média (Dunnett) nos dados obtidos nos substratos e nos biofertilizantes. Os resultados foram comparados com a testemunha, utilizando-se o programa Assistat.

Ainda foram ajustadas equações de forma que se pudesse, a partir das mesmas, estimar a produção acumulada de biogás, utilizando – se para isso, o programa SigmaPlot.

Por fim, foram traçadas curvas de produção acumulada de biogás durante o período de observação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização do dejetto bovino bruto e do inóculo EM

Os resultados para características do dejetto bovino bruto e do EM se encontram apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Caracterização do dejetto bovino bruto e do EM antes de ser acrescentado ao substrato da digestão anaeróbia.

	PH	DQO (mgL ⁻¹)	ST (%)	SFT (%)	SVT (%)
Dejeto			15,18	1,65	13,53 (89,13% dos ST)
EM	3,34	24250	12,20	0,70	11,50 (94,26% dos ST)

Na Tabela 1 está demonstrado que o resíduo bovino bruto utilizado, ainda em sua fase natural, sem ser incorporado ao substrato, apresenta 89,13% de seus sólidos da forma volátil. Com base em tal valor, pode – se afirmar que o mesmo é altamente degradável, sendo possível de se aplicar um tratamento biológico. Porém, a quantidade de ST presente nesse resíduo é alta, necessitando de diluição em água para se conduzir o processo de digestão anaeróbia de forma adequada.

O EM apresentou, em seu estado original, pH igual a 3,34 e DQO de 24250 mg L⁻¹. Além de muito ácido, o inóculo apresentou grande quantidade de matéria orgânica, quase toda volátil, o que está demonstrado nas concentrações de sólidos determinadas.

O valor de pH obtido para o EM não condiz com o pH obtido por Shalaby *et al.* (2011), que utilizaram uma cultura comercial de EM, cujo pH observado foi igual a 7,8. Sigstad e colaboradores (2013), porém utilizaram uma cultura comercial de EM no solo com pH de 3,5. Essas diferenças do pH podem estar relacionadas tanto ao estágio de desenvolvimento da

cultura como às diferentes espécies que podem ser encontradas na cultura. Diferenças também podem estar relacionadas às características do meio em que a cultura cresce.

O alto valor da DQO observado no EM pode ser explicado pelo meio de cultura, formado por caldo de cana, e/ou também pelo crescimento microbiano ocorrido nesse meio. Apesar de ter uma aparência líquida, a quantidade de material orgânico passível de ser degradada bioquimicamente é muito alta. O mesmo pode-se afirmar sobre os valores de ST. Cerca de 94,26% dos Sólidos Totais são Sólidos Voláteis Totais, demonstrando que boa parte dos constituintes da cultura de EM é passível de degradação. Novamente, as características do meio de cultura e dos microrganismos presentes explicam essa tendência.

Análise do substrato e do biofertilizante

Alcalinidade e pH

Na Tabela 2 estão encontram – se os resultados referentes à Alcalinidade e pH do substrato utilizado no experimento, bem como do biofertilizante gerado após a digestão anaeróbia.

Tabela 2: Alcalinidade e pH do substrato utilizado e do biofertilizante gerado após o processo de digestão anaeróbia.

PARÂMETRO	Substrato				Biofertilizante			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Alcalinidade (mgL ⁻¹ CaCO ₃)	0,03203 b	0,03595 b	0,04875 a	0,05128 a	0,01130 b	0,01080 b	0,05441 a	0,05476 a
pH	5,99 b	6,093 b	6,573 a	6,580 a	4,313 b	4,310 b	7,307 a	6,730 a

* Médias seguidas de mesmas letras minúsculas não diferem em relação à testemunha pelo teste Dunnett, ao nível 5% de probabilidade.

Em altas concentrações, o EM influenciou negativamente a alcalinidade do sistema: alcalinidade menor implica em menor poder tamponante, resultando em maior

facilidade de mudança do pH. Tal comportamento também foi observado por Namsivayam *et al.* (2011), os quais obtiveram diminuição da alcalinidade do esgoto doméstico com o tempo de digestão após se adicionar EM.

Para o presente experimento, a característica ácida do EM diminuiu o poder tamponante do sistema, fazendo com que o pH não se estabilizasse quando o EM foi utilizado em adições de 15% e 10%. O fenômeno foi menos percebido para adições de 1%, demonstrando que para baixas concentrações de EM, a queda da alcalinidade do sistema é menor, quando comparada com a testemunha (nenhuma adição), se igualando a ela.

Ao término da digestão, a alcalinidade da testemunha e do tratamento de baixa concentração do inóculo apresentou valores superiores aos valores observados no início da digestão, provavelmente relacionada a uma maior estabilidade entre compostos orgânicos e enzimas presentes no meio.

Devido à menor alcalinidade registrada no início e no término da digestão, os tratamentos T1 e T2 não resistiram à queda do pH na fase de acidogênese, na qual ácidos orgânicos de cadeia curta são produzidos. A queda do pH cria um ambiente não propício às bactérias metanogênicas e a digestão anaeróbia não se conclui. A utilização do biofertilizante no solo, nesse caso é dificultada, por estar muito ácido; necessitando de um tratamento de correção do pH antes de acrescentá-lo ao solo. O posterior tratamento desse biofertilizante para que atinja as condições de lançamento em cursos d'água também apresentará dificuldades, uma vez que necessitará de um aumento do pH antes de um novo tratamento biológico.

Em biodigestores contínuos, por sua vez, onde existe uma constante entrada e saída de material, o acréscimo de uma base com a finalidade de aumentar o pH final do

biofertilizante pode acontecer junto a entrada do material, mudando as condições do meio, possibilitando a metanogênese. Em um sistema de batelada, tal ação torna – se impossível, uma vez que seria necessário abrir o sistema, o que comprometeria a estanqueidade.

Sólidos

Na Tabela 3 estão demonstrados os resultados das análises das concentrações médias de ST, em %, para os substratos com diferentes percentuais de EM e para os respectivos biofertilizantes gerados, bem como percentuais de redução obtidos nos referidos sólidos.

Tabela 3: Resultados das análises das concentrações médias de ST, em %, para os substratos com diferentes percentuais de EM e para os respectivos biofertilizantes gerados, bem como percentuais de redução obtidos nos referidos sólidos.

	ST			
	T1	T2	T3	T4
Substrato	8,00% a	8,00% a	8,00% a	8,00% a
Biofertilizante	4,82% a	5,02% a	5,72% b	4,60% a
% de Redução	39,75	37,25	28,50	42,50

* Médias seguidas de mesmas letras minúsculas não diferem em relação à testemunha pelo teste Dunnett, ao nível 5% de Probabilidade.

Quando comparado com a testemunha, apenas o tratamento T3 teve uma redução na porcentagem de ST.

Em menores porcentagens, a utilização do EM como inóculo não é justificada pela sua eficiência na redução dos ST, por apresentar valores inferiores de redução de ST quando usado em maiores porcentagens e quando não se utilizou nenhum inóculo (testemunha).

Todavia, o parâmetro ST também não justifica a utilização ou não do EM como inóculo, uma vez que não houve diferenças estatísticas, conforme o teste de Dunnett a 5% de probabilidade, entre a testemunha e os tratamentos com maior

concentração de EM.

Demanda Química de Oxigênio (DQO)

Na Tabela 4 estão apresentados os valores médios de DQO, em mg L^{-1} , para os substratos com diferentes percentuais de adição de inóculo EM e para os respectivos biofertilizantes gerados, bem como percentuais de redução da referida DQO.

Tabela 4: Valores médios de DQO, em mg L^{-1} , para os substratos com diferentes percentuais de adição de inóculo EM e para os respectivos biofertilizantes gerados, bem como percentuais de redução da referida DQO.

TRATAMENTO	DQO _{substrato} [*] (mg L^{-1})	DQO _{biofertilizante} [*] (mg L^{-1})	% redução DQO [*] (mg L^{-1})
T1	133472 a	103020 b	22,73
T2	116917 a	85850 b	26,17
T3	106571 a	48278 a	53,62
T4	137956 a	28549 a	79,44

* Médias seguidas de mesmas letras minúsculas não diferem em relação à testemunha pelo teste Dunnett, ao nível 5% de Probabilidade.

A eficiência de remoção da DQO na testemunha (tratamento T4) foi superior que nos demais tratamentos. Quando comparado com a testemunha, o tratamento T3, com 1% de inóculo não difere a 5% de probabilidade, enquanto os demais tratamentos diferem, conforme o teste de Dunnett.

A eficiência de remoção da DQO pela testemunha está de acordo com a eficiência teórica para processos anaeróbios citada por Chernicharo (2007), segundo o qual, é de 60 a 80%. O tratamento T3 também teve eficiência de remoção próxima à teórica.

Por outro lado, nos tratamentos T1 e T2, com mais inóculo, a eficiência foi baixa comparada aos demais. Nestes tratamentos, provavelmente devido à acidificação do meio, a digestão anaeróbia não teve um ciclo completo; não houve a conversão da matéria orgânica em biogás.

Produção de biogás

Nos gasômetros, a pressão relativa à atmosférica variou muito conforme o tratamento. Na Figura 15 está demonstrada a variação de pressão dentro dos gasômetros. Os tratamentos com alta concentração de inóculo apresentaram significativa e rápida redução nos valores de pressão, o que possivelmente está associado à fase de acidogênese, na qual, segundo Sant' Anna Jr (2010), a pressão interna em digestores anaeróbios pode chegar até -4 atm. Para esses tratamentos, não se conseguiu reverter a situação dentro dos gasômetros, de forma a se estabelecer a produção de biogás. Quanto aos demais tratamentos, após o início do segundo ciclo de produção de biogás, a pressão do gasômetro permaneceu acima da pressão atmosférica.

A explicação para esse comportamento diferente nos tratamentos T1 e T2 é que o pH apresentou valores muito baixos, desvantajosos para os organismos metanogênicos. A introdução do EM como inóculo diminuiu a alcalinidade do sistema, ocorrendo dificuldade na manutenção do pH próximo à neutralidade. Isso é a provável causa de não se obter biogás em biodigestores cujas porcentagens de inóculo EM sejam maiores.

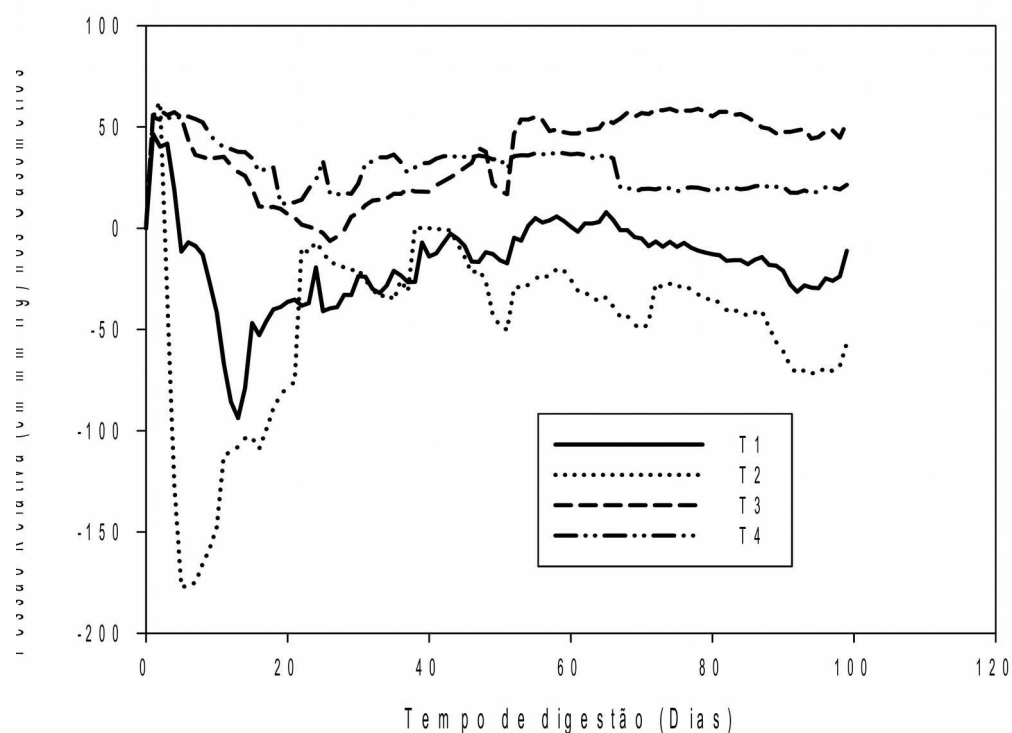


Figura 15: Comportamento das pressões relativas do biogás (em mm Hg) nos gasômetros.

Na Tabela 5 estão demonstrados os valores de Graus de Liberdade (GL), Soma de Quadrados (SQ), Quadrado Médio (QM), F e Probabilidade da regressão e seu respectivo resíduo a partir das análises de variância da produção acumulada de biogás durante o período de coleta de dados, de acordo com os diferentes percentuais de adição de inóculo EM.

Tabela 5: Valores de Soma de Quadrados (SQ), Quadrado Médio (QM), F e Probabilidade da regressão e seu respectivo resíduo a partir das análises de variância da produção acumulada de biogás durante o período de coleta de dados, de acordo com os diferentes percentuais de adição de inóculo EM.

Tratamento		SQ	QM	F	P
T1	Regressão	116,3936	58,1968		
	Resíduo	12,9398	0,0496	1173,8457	< 0,0001*
	Total	129,3334	0,4918		
	Regressão	1,0810	0,3603		

T2	Resíduo	18,6337	0,0717	5,0279	0,0021*
	Total	19,7148	0,0750		
	Regressão	87,7571	29,2524		
T3	Resíduo	62,2335	2,4163	12,1064	< 0,0001*
	Total	715,9906	2,7224		
	Regressão	115,0544	38,3515		
T4	Resíduo	634,1117	2,4389	15,7250	< 0,0001*
	Total	749,1661	2,8485		

* Significativo a 5% de probabilidade, conforme o teste F.

Uma vez que os tratamentos com diferentes percentuais de adição de inóculo EM diferiram, procurou – se a curva que melhor explicasse o comportamento de cada um dos tratamentos. Na Tabela 6 estão demonstradas as equações de regressão para obtenção do volume acumulado de biogás e seus respectivos coeficiente de determinação (R^2) em cada um dos tratamentos, bem como o volume máximo de biogás acumulado, em litros, para cada um dos tratamentos.

Tabela 6: Equações de regressão para obtenção do volume acumulado de biogás e seus respectivos coeficiente de determinação (R^2) em cada um dos tratamentos, bem como o volume máximo de biogás acumulado, em litros, para cada um dos tratamentos.

TRAT	PARÂMETROS*				R^2	Max**
	a	b	x_0	y_0		
T1	1,9231	0,3318	0,4823	0,0000	0,8999	1,9231
T2	1,7519	-0,0153	-0,0379	1,6894	0,0548	3,4413
T3	40,0575	-0,0530	-0,1832	1,1427	0,1226	41,2002
T4	2,0967	0,0452	0,0316	-0,1979	0,1536	1,8988

* $f = y_0 + a / (1 + \exp(-(x - x_0)/b))$.

** Valores de f estimados conforme equação obtida através da regressão.

Conforme pode ser observado na Tabela 6, quando utilizado inóculo de EM, os valores máximos de produção acumulada de biogás foram inversamente proporcionais à concentração de inóculo adicionada. O tratamento T3, com concentração de 1% de EM resultou em maior produção acumulada de biogás, seguido pelo tratamento T2, com 10% de inóculo EM e este seguido pelo tratamento T1, com 15% de EM. O tratamento T4 apresentou menor valor acumulado de produção de biogás, o que permite inferir que houve interferência positiva do uso do EM como inóculo em baixa concentração, sobre a produção de biogás. Apesar disso, não era esperada tão baixa produção acumulada para o dejetos puro, ou seja, para o substrato sem adição de inóculo.

Os baixos valores observados para R^2 se devem às características biológicas que foram impostas ao sistema, as quais dificultam a correlação entre a variável dependente (produção acumulada de biogás) e a independente (porcentual de inóculo adicionado). Altas concentrações de EM refletem numa menor produção de biogás.

Na Figura 16 está demonstrada a produção acumulada estimada de biogás durante o período de digestão.

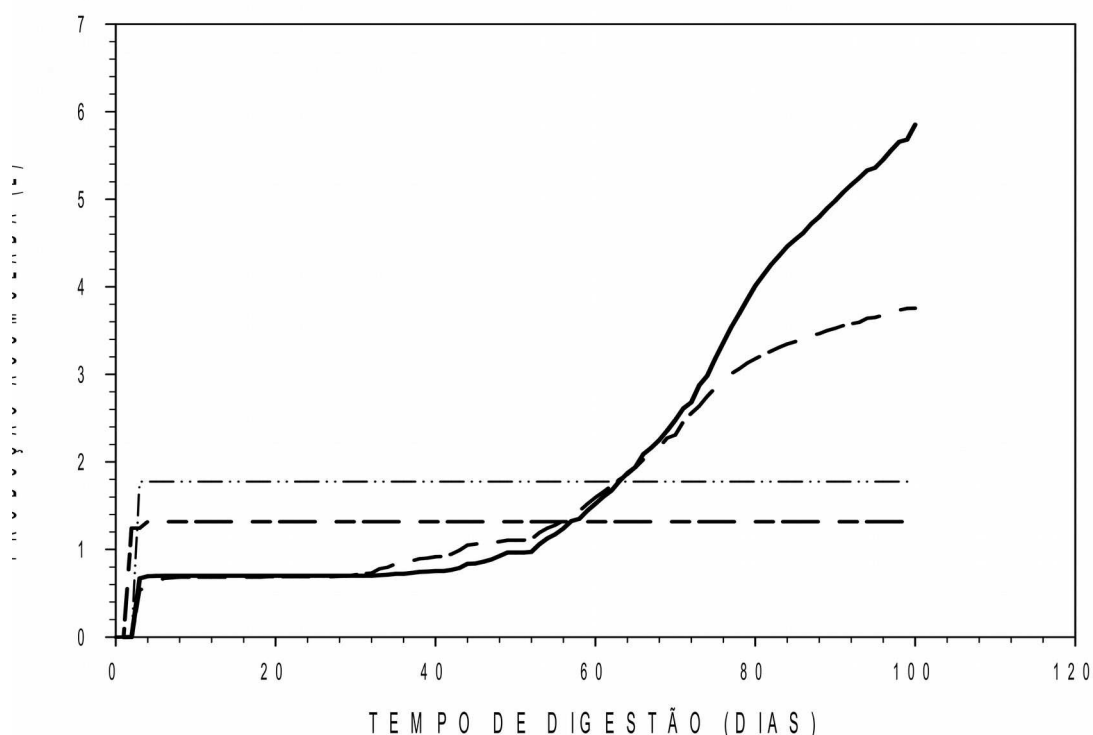


Figura 16: Média de produção acumulada de biogás para os tratamentos, ou seja, substratos com diferentes percentuais de adição de EM, T1 (15%), T2 (10%), T3 (1%) e T4 (0%).

Nota-se melhores resultados para digestão anaeróbia na concentração menor do inóculo. Os biodigestores com 15% de inóculo e 10% de inóculo apresentaram um pico de produção inicial mais rápido, estagnando a produção de biogás nesse ponto, semelhante ao comportamento da testemunha. No tratamento T3, com 1% de inóculo EM, o pico de produção de biogás se deu a partir do 8º dia de digestão, atingindo valores, no final, superiores à produção nos demais tratamentos, indicando que o inóculo em questão, em baixas concentrações é vantajoso para a produção de biogás.

Os resultados de produção máxima de biogás para a testemunha e para os tratamentos com maior concentração de inóculo, todavia não estiveram de acordo com a literatura. Galbiatti *et al.* (2010) obtiveram 900,4 m³ de biogás ao término da digestão de substrato de resíduo bovino preparado

a partir da mistura de esterco bovino em água e digerido em biodigestores de 70 L de volume útil. Nesse caso, pode – se considerar que a produção acumulada foi de 12,86 litros de biogás por litro de substrato adicionado na câmara de digestão, enquanto para essa pesquisa, esse valor calculado foi 20,60 litros para o tratamento com adição de 1% de inóculo EM (T3). Apesar disso, muitos resultados experimentais relacionados à produção de biogás não ocorreram dentro do esperado, como a produção de biogás da testemunha, que se limitou a 0,95 litro por litro de substrato adicionado, mesmo o substrato sendo preparado em condições semelhantes às dos referidos autores. Isso pode ser devido, a grande parte ao funcionamento do aparato laboratorial, o qual foi construído de forma artesanal. Diante disso, não há como descartar a possibilidade de ter ocorrido algum vazamento de biogás, tendo em vista a utilização de vedação com silicone nas câmaras de digestão, nos gasômetros e em algumas juntas. Esse material pode se tornar ressecado com o passar do tempo e apresentar fissuras. A experimentação com volume reduzido faz com que qualquer vazamento, por menor que seja, passe a ser muito significativo.

CONCLUSÕES

O inóculo EM (Effective Microorganisms) utilizado nesse trabalho apresentou um pH muito ácido, o que gerou redução da alcalinidade nos substratos formulados com os diferentes percentuais de adição adotados para o referido inóculo. Este experimento abre precedentes para a utilização de EM como inóculo, uma vez que em pequenas concentrações ele se torna mais viável em maior escala. Novos estudos são necessários para melhor definir a concentração ideal de EM a ser utilizada em biodigestores.

Percebe – se ainda a necessidade de uma avaliação do biofertilizante e sua utilização no solo e suas possíveis melhorias ao solo e às plantas.

À primeira vista, o EM obtido pelo “Método Caseiro de Captura e preparo do EM/solo”, apresenta – se promissor para ser utilizado como inóculo.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, F.M.C. **Caderno dos microrganismos eficientes (EM)- Instruções práticas sobre o uso ecológico e social do EM**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2011. 32p.

AQUINO, S.F.; CHERNICHARO, C.A.L.; SANTOS, M.L.F.; MONTEGGIA, L.O. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.12, n.2, p. 192-201, 2007.

BAJAWA, R.; JAVAID, A.; HANEEF, B. EM and VAM technology in Pakistan V: response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to co-inoculation with effective microorganisms (EM) and VA mycorrhiza under allelopathic stress. **Pakistan Journal of Botany**, v.31, n.2, p. 387-396, 1999.

BEEVI, N.D.; QUADRI, S.M.H. Biological control of mulberry root rot disease (*Fusarium spp*) with antagonistic microorganisms. **Journal of Biopesticides**, v.3, p.90-92, 2010.

BOOPATHY, R. Inoculum source for anaerobic fermentation of coffee pulp. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.26, p. 588-594, 1987.

CARNEIRO, F.T.; PÉREZ, M.; ROMERO, L.I. Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. **Bioresource Technology**, v.99, p. 6994-7002, 2008.

CASTILLO, R. T.; LUENGO, P. L.; ALVAREZ, J. M. Temperature effect on anaerobic digestion of bedding straw in a one phase system at different inoculum concentration. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.54, p. 55-66, 1995.

CHAE, K. J.; JANG, A.; YIM, S. K.; KIM, S. I. The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure. **Bioresource Technology**, v.99, p. 1-6, 2008.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**. 2 ed. Belo Horizonte-MG: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-UFMG, 2007. 380 p.

COMASTRI FILHO, J. A. **Biogás independência energética do pantanal mato-grossense**, Circular técnica, n.9, EMBRAPA Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual de Corumbá, Corumbá, 198. 53p.

COSTA, J. C.; GONÇALVES, P.R.; NOBRE, A.; ALVES, M. M. Biomethanation potential of macroalgae *Ulva spp.* and *Gracillaria spp.* and in co – digestion with waste activated sludge. **Bioresource Technology**, v.114, p. 320-326, 2012.

ERGÜDER, T. H.; TEZEL, U.; GÜVEN, E.; DEMIRER, G. N. Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors. **Waste Management**, v. 21, p. 643-650, 2001.

FANTOZZI, F.; BURATTI, C. Biogas production from different substrates in an experimental Continuously Stirred Tank Reactor anaerobic digester. **Bioresource Technology**, v.100, p. 5783-5789, 2009.

FREITAG, D.G. The use of Effective Microorganisms (EM) in organic waste management. **Sustainable Community Development**. 2000. Disponível em: <[http://envismadrasuniv.org/pdf/The%20Use%20of%20Effective%20Microorganisms%20\(EM\).pdf](http://envismadrasuniv.org/pdf/The%20Use%20of%20Effective%20Microorganisms%20(EM).pdf)>. Acesso em: 12 Set. 2013.

GALBIATTI, J. A.; CAMELO, A. D.; SILVA, F. G.; GERARDI, E. A. B.; CHICONATO, D. A. Estudo qualitativo do biogás produzido por substratos em biodigestores tipo batelada.

Revista Brasileira de Engenharia Agrícola, v.14, n.4, p. 432-437, 2010.

GUNASEELAN, V. N.. Biochemical methane potential of fruits and vegetable solid waste feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, v.26, p. 389-399, 2004.

HIGA, T.; PARR, J. **Beneficial and Effective Microorganisms for a Sustainable Agriculture and Environment**. Atami: International Nature Farming Research Center, 2008. 16p.

HU, C.; QI, Y. Long-term effective microorganisms application promote growth and increase yields and nutrition of wheat in China. **European Journal of Agronomy**, v. 46, p.63-67, 2013.

IBGE -Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal – 2010**. Brasil, 2010.Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/default_pdf.shtm>. Acesso em 08/04/2013.

INOUE, K. R. A. **Produção de biogás, caracterização e aproveitamento agrícola do biofertilizante na digestão da manipueira**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola-Área de Concentração em Construções Rurais e Ambiência)-Universidade Federal de Viçosa, 2008. 76 p.

KHALIQ, A.; ABBASSI, M. K.; HUSSAIN, T. Effects of integrad use of organic and inorganic nutrient source with effective microorganisms (EM) on seed cotton yuield in Pakistan. **Bioresource Technology**, v.97, p. 967-972, 2006.

LABATUT, R. A.; ANGENENT, L. T.; SCOTT, N. R. Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 2255-2264, 2011.

LESTEUR, M.; LATRILLE, E.; MAUREL, V. B.; ROJER, J. M.; GONZALEZ, C.; JUNQUA, G. STEYER, J. P. First stepe

towards a fast analytical method for determination of Biochemical Methane Potential of solid waste by near infrared spectroscopy. **Bioresource Technology**, v.102, p.2280-2288, 2011.

LIU, G.; ZHANG, R.; EL-MASHAD, H.M.; DONG, R. Effect of feed to inoculum ratios on biogas yields of food and green wastes. **Bioresource Technology**, v.100, p.5103-5108, 2009.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Bovinos e Bubalinos**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>>. Acesso em: 08 Abr. 2013.

MATOS, A.T. **Tratamento de resíduos agroindustriais**. Fundação Nacional do Meio Ambiente, 2005.34p. disponível em: <<http://www.ufv.br/dec/simea/apresentacoes/CursoMatosFEAM2005.pdf>>. Acesso em: 27 Ago. 2012.

MENDONÇA, E. F. **Tratamento anaeróbio dos efluentes oriundos da bovinocultura de leite em biodigestor tubular**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola- Área de Concentração em Recursos Hídricos)- Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Campus de Cascavel, 2009. 62p.

MOGAMI, C. A. **Influencia de diferentes dietas nas características dos dejetos de cabras leiteiras com vistas à produção de biogás** Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola- Área de Concentração em Construções Rurais e Ambiência)-Universidade Federal de Viçosa, 2005.48 p.

MOORHEAD, K. K.; NORDSTEDT, R. A. Batch anaerobic digestion of water hyacinth: effects of particle size, plant nitrogen content, and inoculum volume. **Bioreourse Technology**, v. 44, p. 71-76, 1993.

NAMSIVAYAM, S. K. R.; NARENDRAKUMAR, G.; KUMAR, J. A. Evoluution of Effective Microorganisms (EM) for Tratament of

domestic sewage. **Journal of Experimental Sciences**, v.2, p. 30-32, 2011.

NOGUEIRA, L. A. H. **Biodigestão, a alternativa energética**. São Paulo: Nobel, 1992. 93p.

OLIVERA, A. P.M.; SOUZA NETO, A.A.; QUADROS, D. G., VALLADARES, R. E. **Manual de Treinamento em Biodigestão**. Salvador – BA: Instituto Winrock – Brasil, 2008. 23p.

PILA, J. **Panorama da produção de leite no Brasil e no mundo**. SCOT Consultoria, 2013. Disponível em:<<http://www.scotconsultoria.com.br/noticias/29440> >. Acesso em: 03 Abr. 2013.

PORTES, Z.A. **Aplicativo computacional para projetos de biodigestores rurais. Botucatu-SP**.Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração Energia na Agricultura) Universidade Estadual Paulista – UNESP, 2005. 83 p.

QUEIROZ, S. C. **Modelagem da produção de biogás em biodigestores tipo batelada segundo a porcentagem de inoculo adicionada utilizando os modelos de regressão não-linear de Gampertz e exponencial**.Tese (Doutorado em Agronomia - Área de Concentração energia na agricultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista – UNESP, 2003. 112p.

RAPOSO, F.; BANKS, C.J.; SIEGERT, I. HEAVEN, S.; BORJA, R. Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in bath tests. **Process Biochemistry**, v.41, p. 1444-1450, 2006.

RINCÓN, B.; BANKS, C.J.; HEAVEN, S. Biochemical methene potential of winter wheat (*Triticum aestivum* L): Influence of growth stage and storage practice. **Bioresource Technology**, v.101, p.8179-8184, 2010.

RODRÍGUEZ L.; SALAZAR P.; PRESTON T. R. Effect of a culture of "native" micro-organisms, biochar and biodigester effluent on the growth of maize in acid soils. **Livestock Research for Rural Development**, v.23, n.223, 2011. Disponível em: <<http://www.lrrd.org/lrrd23/10/rodr23223.htm>> .Acesso em: 5 Sep.2012.

SANT`ANNA JR, G.L. **Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Interciência, 2010. 418p.

SHALABY, E. A. Prospects of effective microorganisms technology in wastes treatment in Egypt. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.3, p. 243-248, 2011.

SIGSTAD, E. E.; SCHABES, F. I.; TEJERINA, F. A calorimetric analysis of soil treated with effective microorganisms. **Thermochimica Acta**, v.569, p. 139-143, 2013.

SOUZA, C. F.; CAMPOS, J. A.; SANTOS, C. R.; BRESSAN, W. S.; MOGAMI, C. A. Produção volumétrica de metano-dejetos de suínos. **Ciências e Agrotecnologia, Lavras**, v. 32, n.1, p. 219-224, 2008.

SOUZA, C. F. ; SANTOS, C. R.; CAMPOS, J. A.; *et al.* Potencial de dejetos de suínos como substrato na biodigestão anaeróbia sob efeitos de diferentes temperaturas e de tempos de retenção hidráulica. **Revista Ceres**, v. 52, n.300, p. 255-265, 2005.

SPEECE, R.E. **Anaerobic biotechnonology and odor/corrosion control for municipalities and industries**. Nashville: Archae Press, 2008. 485 p.

SZYMANSKI, N.; PATTERSON, R. A. Effective Microorganisms and Wastewter Systems In: PATERSON, R. A.; JONES,M. J. (Ed).**Future Directions for On – site Sistems: Best Management Practice**. Proceedings of On -site' 03

Conference. University of New England, Armidale, 30 September – 2 October, 2003. Lanfax Laboratories Armidale, p. 347-354.

TANG, J.; NIU, X.; SUN, Q.; WANG, R. Bioremediation of petroleum polluted soil by combination of rye grass with effective microorganisms. In: LEHAMANN, J.; JOSEPH, S. (Ed.) **Biochar for Environmental Management Science and Technology**. Anais: 2009 Internatinal Conference on Environmental Science and Information Application Technology. Earthscan, 2009. p.51 – 54.

XAVIER, C. A. N.; LUCAS JUNIOR, J. Parâmetros de dimensionamento para biodigestores bateladas operados com dejetos de vacas leiteiras com e sem o uso de inóculo. **Engenharia Agrícola Jaboticabal**, v. 30, p. 212-223, 2010.