

# Digestão anaeróbia de gorduras: problemas e soluções

Madalena Alves, Alcina Pereira, Manuel Mota

Departamento de Engenharia Bológica – Universidade do Minho

Campus de Gualtar, 4710-057 Braga

## Resumo

Os lípidos ou gorduras são teoricamente atractivos para a produção de biogás devido ao seu elevado potencial metanogénico, quando comparado com proteínas ou hidratos de carbono. Há descrições na literatura de que a adição controlada de lípidos a um digestor pode aumentar significativamente a produção de biogás. Verificou-se por exemplo que num digestor anaeróbio para tratamento de resíduos animais duma exploração leiteira, a produção de biogás duplicou após a introdução duma pequena fracção (5%) de óleo de peixe, o que contraria a ideia de que os lípidos são altamente nefastos aos processos de tratamento anaeróbio de efluentes. As condições de mistura, tempo de retenção hidráulico, e nível de aclimatação da biomassa ao substrato são factores chave na degradação anaeróbia deste tipo de composto.

Neste artigo são apresentados alguns dos problemas geralmente associados ao tratamento anaeróbio de efluentes com elevados teores de lípidos e são descritos os últimos avanços neste domínio, nomeadamente o trabalho realizado no Departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho, recentemente premiado pela Fundação Lettinga.

## Introdução

Os lípidos são importantes constituintes da matéria orgânica dos efluentes e, embora nos efluentes domésticos existam em concentrações relativamente baixas, entre 40 e 100 mg/L [1], a sua presença nos efluentes industriais é alvo de particular atenção. Lacticínios, refinarias e matadouros são exemplos de indústrias cujos efluentes contêm gorduras em concentrações elevadas. De entre as várias famílias de lípidos existentes, os tri-ésteres de glicerol e ácidos gordos são os mais abundantes na natureza. Exemplificando para esse tipo de lípidos, a sua hidrólise processa-se de acordo com a seguinte reacção representada na Figura 1

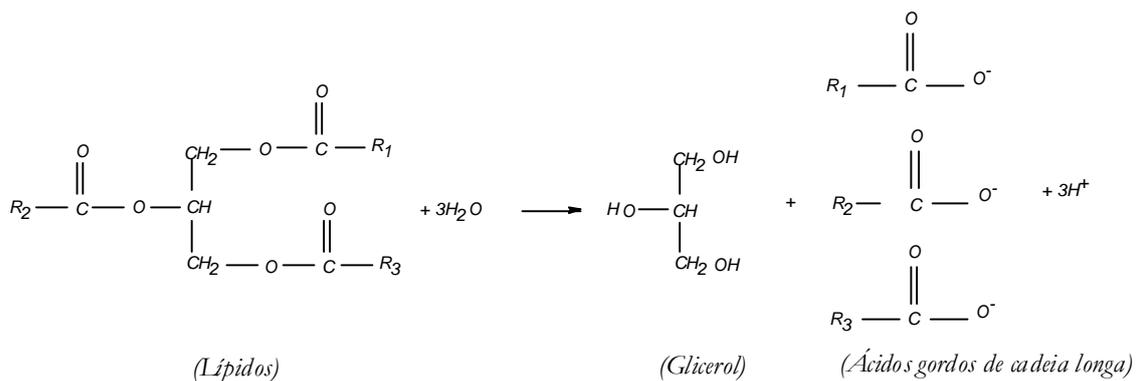


Figura 1 – Reacção de hidrólise de um ácido gordo de cadeia longa (AGCL).

É aceite que num digestor anaeróbio recebendo um efluente líquido esta reacção é rápida, favorecendo a acumulação dos ácidos gordos de cadeia longa (AGCL) que mantêm cerca de 95 % da carga orgânica original. Contudo, no caso de resíduos complexos, a hidrólise dos lípidos pode ser limitante. Os problemas associados ao tratamento anaeróbio de efluentes com elevados teores de gordura são devidos à acumulação de AGCL, sendo usual, na prática proceder a uma separação prévia da matéria gorda por métodos físico-químicos, por exemplo, por flutuação. No entanto, esta prática não permite aproveitar o

potencial energético destes compostos, uma vez que são posteriormente tratados como um resíduo sólido sem valor.

A composição dos AGCL varia com o tamanho da cadeia de carbonos e com o grau de saturação. Na Tabela 1 estão representados alguns AGCL que ocorrem na natureza.

Tabela 1. Exemplos de alguns AGCL que ocorrem na natureza [2].

Nº de Carbonos	Nº de ligações duplas	Nome comum	Abreviatura	Fórmula química
<b>saturados</b>				
12	0	Láurico	C <sub>12:0</sub>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH
14	0	Mirístico	C <sub>14:0</sub>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH
16	0	Palmítico	C <sub>16:0</sub>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH
18	0	Estearico	C <sub>18:0</sub>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> COOH
20	0	Araquídico	C <sub>20:0</sub>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> COOH
<b>insaturados</b>				
16	1	Palmitoleico	C <sub>16:1, cis-9</sub>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
18	1	Oleico	C <sub>18:1, cis-9</sub>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
18	2	Linoleico	C <sub>18:2, cis-9,12</sub>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> (CH=CH(CH <sub>2</sub> )) <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH
18	3	Linolénico	C <sub>18:3, cis-9,12,15</sub>	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> (CH=CH(CH <sub>2</sub> )) <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH
20	1	Gadoleico	C <sub>20:1, cis-9</sub>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH

Devido à sua estrutura anfifílica, composta por uma cauda alifática apolar e por uma extremidade carboxílica polar, os AGCL, quando num meio aquoso, comportam-se como detergentes. A pH neutro encontram-se na forma ionizada, sendo frequente designá-los por essa forma, por exemplo oleato em vez de ácido oleico.

As reacções da β-oxidação só são termodinamicamente favoráveis se a pressão parcial de hidrogénio for mantida em níveis baixos, inferiores a 10<sup>-4</sup> atm, o que é conseguido por associações simtróficas com bactérias metanogénicas hidrogenotróficas ou sulfato-redutoras.

### Problemas associados com a degradação anaeróbia das gorduras

Existem dois tipos distintos de problemas associados com a degradação anaeróbia de gorduras: problemas físicos e problemas metabólicos. Os primeiros relacionam-se com a acumulação dos lípidos/ácidos gordos de cadeia longa nos agregados de biomassa, tornando-os leves, flutuantes e sujeitos a serem arrastados para fora do reactor. Este problema é mais agudo em processos de alta carga baseados em biomassa granular, uma vez que os AGCL provocam a desintegração dos grânulos. Do ponto de vista termodinâmico, esta desintegração granular é previsível porque, a pH neutro, os AGCL actuam como detergentes, baixando a tensão superficial. Consequentemente, a agregação de bactérias hidrofóbicas, como são a maior parte das acetogénicas envolvidas na β-oxidação (consumidoras de AGCL) é desfavorável, aumentando a probabilidade de “washout” destas bactérias [3,4]. Os problemas metabólicos relacionam-se com a ideia aceite durante anos de que os AGCL são fortemente inibidores da actividade metanogénica, sendo mesmo bactericida para estas populações bacterianas [5].

A aplicação de reactores anaeróbios de alta carga do tipo manto de lamas (UASB-Upflow Anaerobic Sludge Blanket e EGSB-Expanded Granular Sludge Bed) ao tratamento de efluentes contendo gorduras, foi estudada por vários investigadores. Embora se tenha concluído que a biomassa granular é mais resistente à toxicidade dos AGCL do que a biomassa dispersa ou floclulenta, é também evidente que a granulação e a estabilidade granular são problemáticas no tratamento de efluentes contendo lípidos devido aos problemas já referidos de desagregação e flutuação dos grânulos. SAMSON *et al*, [6] descreveram a

falha dum digestor UASB industrial devido a problemas de flutuação, durante o tratamento do efluente de uma indústria de lacticínios. HAWKES *et al.* [7], compararam diversos tipos de digestores para o tratamento de efluentes de uma indústria de gelados tendo concluído que a granulação não era viável nesse tipo de efluente e que o filtro anaeróbio era a configuração de digestor mais adequada. RINZEMA [5] observou que a aplicação de um digestor UASB convencional a efluentes contendo AGCL resultava na acumulação e sobrecarga local desses compostos a par de um elevado “washout” causado pela flutuação da biomassa encapsulada. Este autor concluiu ainda que, para um efluente contendo AGCL, a configuração alternativa de manto de lamas com recirculação (EGSB) podia ser aplicada, mas para efluentes contendo lípidos, tinha de ser implementado um separador tipo peneiro para impedir a saída da biomassa. SAM-SOON *et al.* [8] utilizaram um UASB no tratamento de um efluente sintético contendo oleato como única fonte de carbono e observaram que os grânulos inicialmente inoculados se desintegraram e se encapsularam por uma massa esbranquiçada e gelatinosa.

Hwu [4] concluiu que os parâmetros operatórios típicos do digestor UASB (velocidade superficial  $> 4$  m/h e tempo de retenção hidráulico (TRH)  $< 10$  h) diminuíam a eficiência de sistemas de tratamento de efluentes contendo AGCL. Este autor concluiu ainda que a recirculação da biomassa que era arrastada na corrente de saída, que apresentava uma elevada capacidade de biodegradação de oleato, aumentava a eficiência do sistema.

Os trabalhos publicados sobre este assunto, sugeriam que os AGCL exerciam um efeito bactericida nas bactérias metanogénicas não sendo evidenciados mecanismos de adaptação à toxicidade destes compostos. A recuperação após uma fase de latência, muitas vezes observada em ensaios em reactor fechado era atribuída ao crescimento de algumas bactérias sobreviventes [5]. ANGELIDAKI E AHRING, sugeriram que a resposta à adição de lípidos podia depender do grau de adaptação aos lípidos enquanto que a adição directa de AGCL acima de determinada concentração, resultava mais rapidamente na falha do processo [9].

Segundo alguns trabalhos anteriormente publicados, o mecanismo de toxicidade dos AGCL relaciona-se com a adsorção destes compostos na membrana celular, afectando as funções de transporte e de protecção da célula [10, 11].

De acordo com alguns autores, de entre os dois tipos de problemas associados à degradação anaeróbia de gorduras, os problemas físicos de adsorção e washout são mais graves do que os problemas de toxicidade.

### **Soluções em perspectiva**

O trabalho iniciado há cerca de 6 anos no Departamento de Engenharia Biológica permitiu obter novos dados sobre a acumulação e degradação de ácidos gordos de cadeia longa em condições anaeróbias. Nestes estudos o ácido oleico foi usado como modelo de AGCL por ser um dos mais abundantes em efluentes industriais e por ser descrito na literatura como um dos mais tóxicos para a biomassa anaeróbia.

Quando se alimentou continuamente um reactor de alta carga com ácido oleico como única fonte de carbono orgânico, verificou-se que havia um passo mediado biologicamente de conversão entre o ácido oleico e o ácido palmítico e que este último AGCL se acumulava associado à biomassa sem ser posteriormente mineralizado nas condições operatórias prevalentes no reactor [12]. No entanto, se se retirasse biomassa do reactor e se incubasse num reactor fechado sem a adição de qualquer outra fonte de carbono, ocorria uma eficiente mineralização a metano. Este resultado, repetido e confirmado em diferentes condições de carga orgânica, permitiu concluir que o consórcio anaeróbio tem uma enorme capacidade de degradar ácidos gordos de cadeia longa quando associados à biomassa por mecanismos de precipitação, adsorção ou retenção no interior dos flocos, mas não quando dispersos em emulsões no meio líquido. Na Figura 2 estão representados esquematicamente os processos de acumulação de AGCL na biomassa e na Figura 3 apresentam-se fotografias de contraste de fase e de fluorescência de flocos bacterianos contendo AGCL.

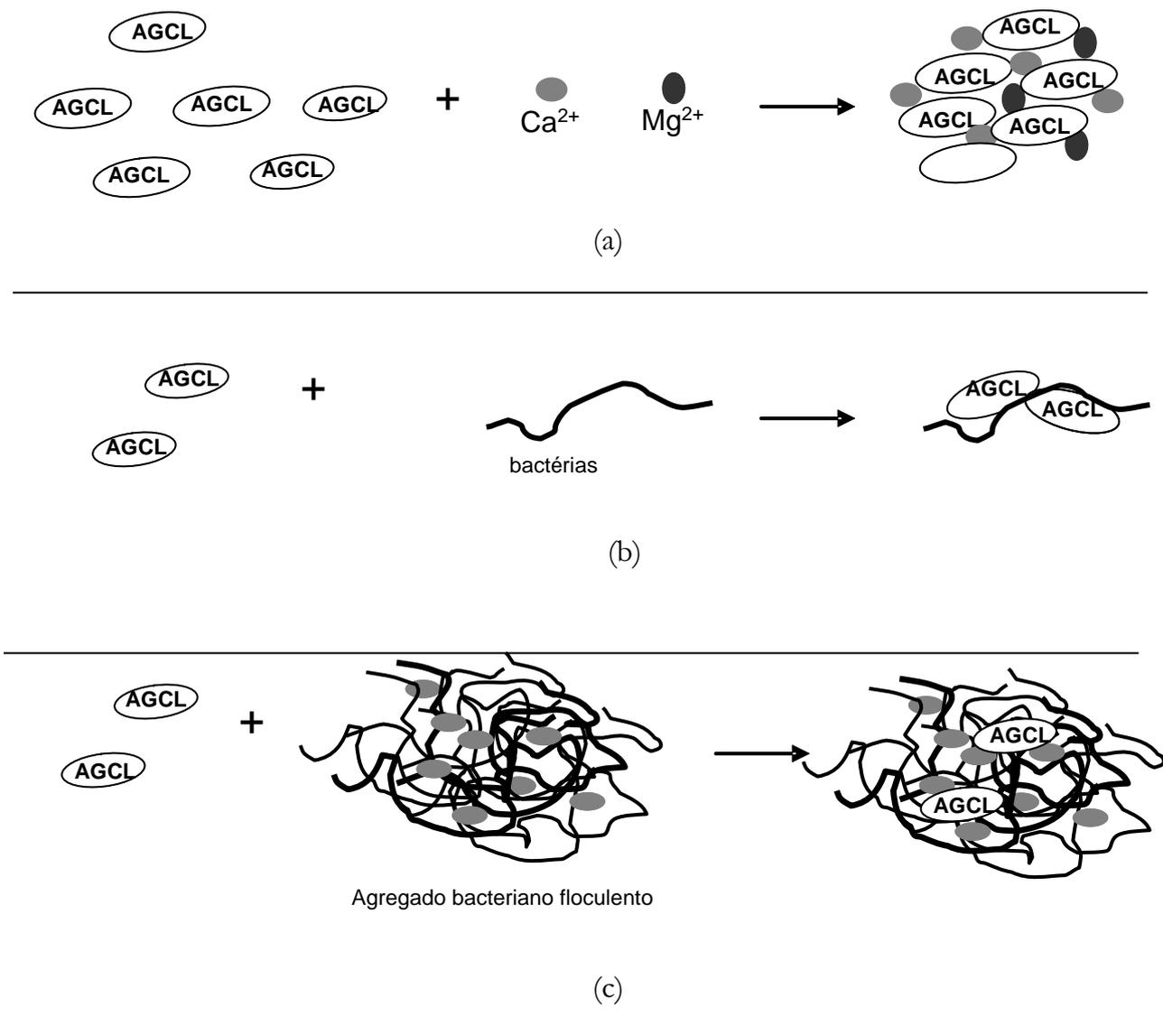


Figura 2 – Mecanismos de acumulação de AGCL na biomassa anaeróbia. (a) precipitação. (b) adsorção. (c) retenção no interior dos flocos.

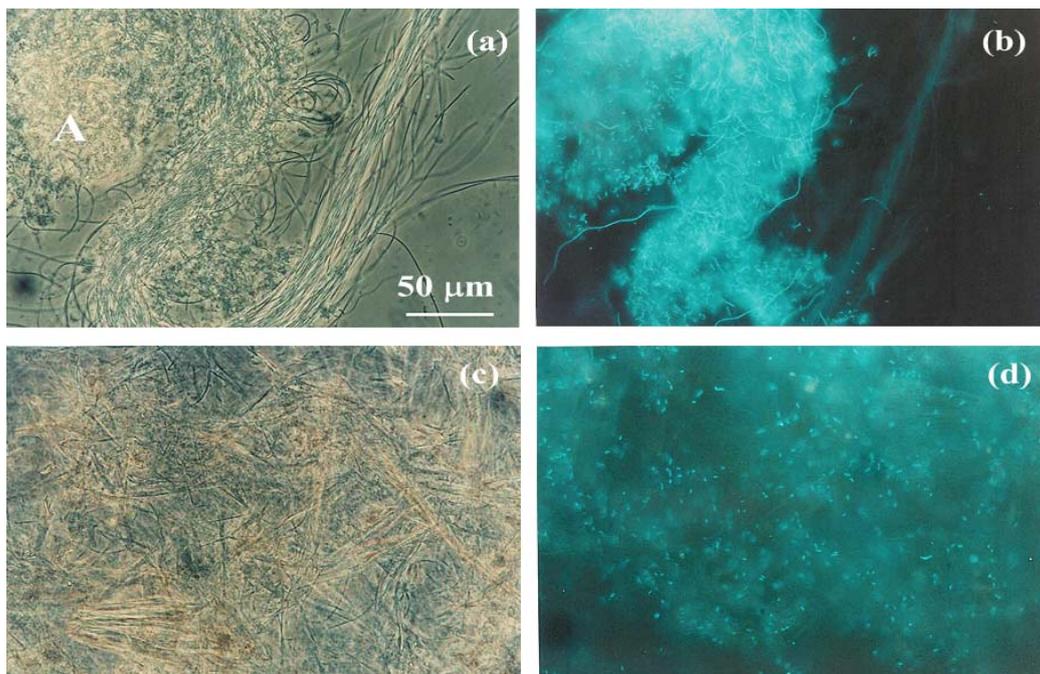


Figura 3 – observação microscópica de flocos bacterianos anaeróbios com AGCL acumulados. (a) e (c) contraste de fase (A – matéria esbranquiçada identificada como AGCL), (b) e (d) auto-fluorescência a 420 nm.

Um dos aspectos mais relevantes deste estudo foi a constatação de que a mineralização destes AGCL acumulados nos flocos de biomassa bacteriana (constituídos essencialmente por ácido palmítico) era inibida pelo substrato que estava a ser alimentado ao reactor. Se se parasse a alimentação ao reactor verificava-se uma eficiente produção de metano, mas se se mantivesse a alimentação esta era suprimida. Na Figura 4 está representado o efeito, na produção de biogás, de adicionar oleato em diferentes concentrações a uma biomassa contendo ácido palmítico acumulado. Verifica-se que o oleato adicionado mesmo em baixa concentração (100 mg/l), inibe a degradação do ácido palmítico acumulado.

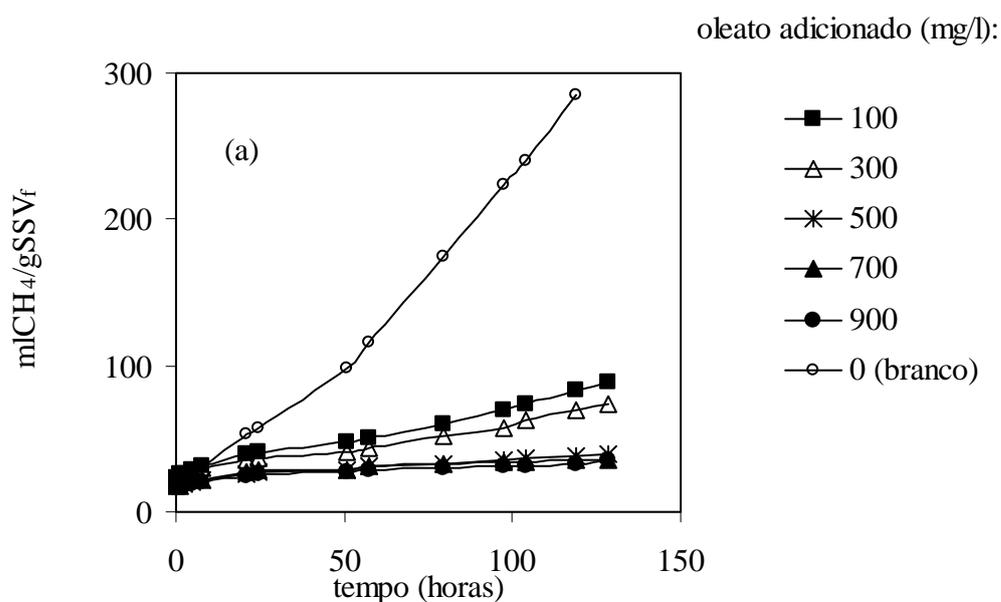


Figura 4 – Efeito de adicionar oleato em diferentes concentrações a uma biomassa contendo ácido palmítico acumulado

Outro dos resultados importantes obtidos foi a demonstração de que, após a degradação dos ácidos gordos associados à biomassa, esta recupera uma actividade metanogénica elevada, estando capaz de receber uma nova “carga” de ácidos gordos e de os degradar eficientemente (Figura 5).

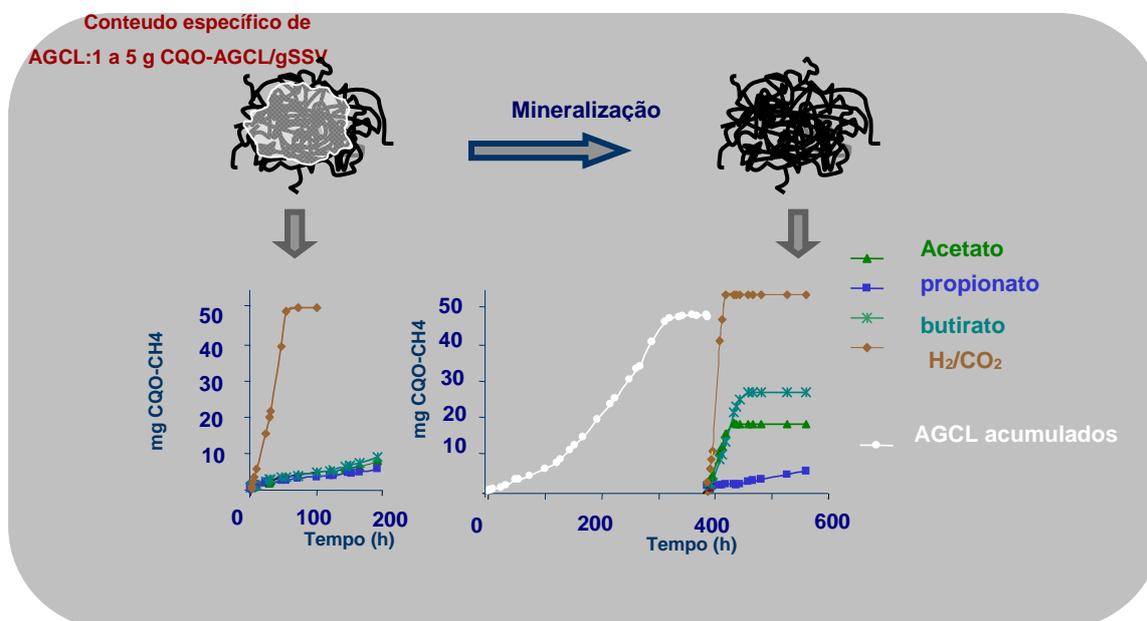


Figura 5 – Resultados de ensaios de medição da actividade metanogénica antes e após a mineralização de AGCL associados à biomassa anaeróbia.

Observou-se assim que, ao contrário do que era aceite, os AGCL podem ser eficientemente mineralizados a metano, desde que se apliquem as condições apropriadas [12, 13]. Este facto é de enorme relevância dado que contraria todas as teorias estabelecidas sobre a toxicidade permanente e efeito bactericida dos ácidos gordos de cadeia longa, concluindo-se que exercem apenas uma inibição reversível, provavelmente não mais do que um efeito físico que afecta o transporte de substrato entre o líquido e a superfície das células.

Estes estudos, sustentaram o desenvolvimento de uma tecnologia inovadora para a mineralização de lípidos em condições anaeróbias. O principal resultado prático desta investigação é que, do ponto de vista do tratamento de efluentes com elevados teores de lípidos, o processo contínuo de alta carga não é possível e só um processo descontínuo baseado na tecnologia dos reactores fechados sequenciais permite a mineralização a metano deste tipo de compostos.

Este trabalho foi premiado com o **prémio Lettinga 2004**. Este prémio, iniciado em 2001, é financiado por 3 empresas internacionais de Biotecnologia Ambiental: Paques Natural Solutions B.V. (<http://www.paques.nl/>), Royal Haskoning (<http://www.royalhaskoning.com/>) e Biothane Systems International (<http://www.biothane.com/>) e é atribuído através da Fundação Lettinga (<http://www.ftns.wau.nl/lettinga-associates/>). O objectivo deste prémio, no valor de 25 000 Euros, é estimular a inovação em biotecnologia ambiental, visando especificamente conceitos inovadores de tratamento sustentado de efluentes domésticos ou industriais, que integrem processos de digestão anaeróbia. A inovação e aplicabilidade são os factores chave de selecção.

Nesta 2ª edição do Prémio Lettinga, foram apresentadas 30 candidaturas de todo o mundo. O Prémio foi entregue a Madalena Alves, professora auxiliar no Departamento de Engenharia Biológica da UM, no passado dia 2 de Setembro em Montreal, Canadá, durante o 10º Congresso Mundial de Digestão Anaeróbia.

## Referências

- [1] FORSTER, C.F. (1992) Oils, fats and greases in wastewater treatment. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 55, 402-404.
- [2] STRYER, L. (1981) Biochemistry. 2nd Ed, W.H.Freeman & Co., New York.
- [3] DAFFONCHIO, D., THAVEESRI, J. E VERSTRAETE, W. (1995) Contact angle measurement and cell hydrofobicity of granular sludge from upflow anaerobic sludge bed reactors. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 3676-3680.
- [4] HWU, C.-S. (1997) Enhancing anaerobic treatment of wastewaters containing oleic acid. *Ph.D. Thesis*, Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.
- [5] RINZEMA, A. (1988) Anaerobic treatment of wastewater with high concentration of lipids or sulfate. *Ph.D. Thesis*, Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.
- [6] SAMSON, R., VAN DEN BERG, B., PETERS, R. E HADE, C. (1985 a) Dairy waste treatment using industrial-scale fixed-film and upflow sludge bed anaerobic digesters: design and start-up experience. In: *Proc. 39<sup>th</sup> Purdue Industrial Waste Conference*, Bell, J.M. (Ed.), Butterworth Publ., Boston, 235-241.
- [7] HAWKES, F.R., DONNELLY, T. E ANDERSON, G.K. (1995) Comparative performance of anaerobic digesters operating on ice-cream wastewater. *Wat. Res.*, 29, 2, 525-533.
- [8] SAM-SOON, P., LOEWENTHAL, R.E., WENTZEL, M.C. E MARAIS, G.V.R. (1991) A long-chain fatty acid, oleate, as sole substrate in upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactor systems. *Water SA*, 17, 1, 31-36.
- [9] ANGELIDAKI, I. E AHRING, B.K. (1992) Effects of free long-chain fatty acids on thermophilic anaerobic digestion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 37, 808-812.
- [10] DEMEYER, D.I. E HENDERICKX, H.K. (1967) The effects of C18 unsaturated fatty acids on methane production in vitro by mixed rumen bacteria. *Biochim. Biophys Acta*, 137, 484-497.
- [11] GALBRAITH, H. E MILLER, T.B. (1973) Physicochemical effects of long chain fatty acids on bacterial cells and their protoplasts. *J. Appl. Bact.*, 36, 647-658.
- [12] PEREIRA, M.A., SOUSA, D.Z., MOTA, M., ALVES, M.M. (2004) Mineralization of LCFA associated to anaerobic sludge: kinetics, transport limitations, enhancement of methanogenic activity and effect of VFA. *Biotechnology & Bioengineering* 88:4, 502-511.
- [13] PEREIRA, M.A., PIRES, O.C., MOTA, M., ALVES, M.M. (2002) Anaerobic degradation of oleic acid by suspended and granular sludge: identification of palmitate as a key intermediate. *Water Science & Technology* 45:10, 139-144.