



II-127 - PROPOSTA DE UMA NOVA METODOLOGIA PARA CÁLCULO DA ATIVIDADE METANOGÊNICA

Lademir Luiz Beal⁽¹⁾

Eng. Químico pela Fundação Universidade de Rio Grande (FURG), Doutor em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental pelo Instituto de Pesquisas Hidráulicas - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (IPH/UFRGS). Professor/Pesquisador do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade de Caxias do Sul (CCET/UCS).

Luiz Olinto Monteggia

Engenheiro Civil e Mecânico pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul Mestre em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental pelo Instituto de Pesquisas Hidráulicas – UFRGS PhD pela University of Newcastle/UK Professor Adjunto do Instituto de Pesquisas Hidráulicas – UFRGS

Endereço⁽¹⁾: Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade de Caxias do Sul (CCET/UCS). **Rua:** Francisco Getúlio Vargas, 1130. **Bairro:** Petrópolis. **Cidade:** Caxias do Sul. **CEP:** 95070-560

RESUMO

Os testes de atividade metanogênica tem se revelado muito úteis para monitorar processos anaeróbios e estudar a cinética, inibição destes processos e biodegradação de compostos utilizando processos anaeróbios. Porém, um dos problemas que pode ser citado, relativamente a estes testes, é o método de cálculo destes valores, pouco esclarecidos e que podem trazer sérios riscos de não haver uma reprodutibilidade. Assim, este artigo propõe um método racional onde a sensibilidade do analista tem a mínima influencia sobre o resultado final. Este método, denominado aqui de Método da Tangente, utiliza uma modelagem através de polinômios, a discute e compara com outros métodos. Os valores obtidos de taxa de produção de metano foram menores que os outros métodos utilizados, porém devido a utilização de um método matemático, entende-se que seja mais seguro e represente melhor, em qualquer período de tempo do teste a atividade metanogênica. Também pode ser uma ferramenta para calcular com exatidão o término da fase lag.

PALAVRAS-CHAVE: Atividade metanogênica, modelagem; metodologia; processo anaeróbio

INTRODUÇÃO

Teste de atividade metanogênica

A atividade metanogênica caracteriza-se por ser um teste em batelada, onde é avaliada a capacidade máxima de produção de metano. À resposta da biomassa em condições padronizadas pode-se estabelecer diversos aspectos de cinética do processo e qualidade da própria biomassa em análise. Assim, o teste pode ser utilizado, segundo James *et al* (1990), para realizar os seguintes estudos:

1. avaliar o comportamento da biomassa anaeróbia sob a influência de compostos inibidores;
2. estabelecer a degradabilidade relativa de vários substratos;
3. observar as mudanças na atividade do lodo devido à possibilidade de aumento das concentrações de materiais inertes, por exemplo metais, após um longo período de operação do reator e
4. avaliar os parâmetros cinéticos em batelada.

A atividade metanogênica pode ser utilizada também para calcular quantidade de biomassa a ser inoculada em um reator para iniciar o processo de partida deste.

No teste de atividade metanogênica, fazem-se algumas considerações baseadas em estudos de Valcke e Verstraete (1983), Dolfing e Bloemen (1985), James *et al.* (1990) e Monteggia (1991) que são as seguintes:

1. o crescimento de biomassa é desprezível, devido ao curto período de tempo no qual o teste é realizado. O principal grupo de microrganismos estimulado é o das arqueas metanogênicas e como a taxa específica máxima de crescimento deste grupo é muito baixa em comparação com os outros, a consideração é factível.
2. a necessidade de nutrientes a ser adicionada é reduzida a nitrogênio, fósforo, enxofre e potássio. A solução é realizada em água de consumo que teoricamente possui outros metais essenciais. Duas razões levam a essa consideração: a primeira é que não há a necessidade de nutrientes para sustentar o



crescimento de biomassa e a segunda é a dificuldade de manter os metais na sua forma ionizada no ambiente anaeróbio.

Para a segunda consideração cabe a ressalva que diversos autores consideram que devem ser adicionados micronutrientes.

No teste de atividade metanogênica, há uma fase “lag” cujo aparecimento pode ser, segundo de Zeew (1984), devido aos seguintes fatores:

1. a atividade metanogênica própria do lodo;
2. o período de estocagem do lodo;
3. a intensidade da mistura;
4. a composição e concentração dos ácidos voláteis usados como substrato;
5. o pH inicial do teste;
6. a presença de substâncias inibidoras como, oxigênio, sulfeto e amônia.

Baseado nos estudos desenvolvidos, de Zeew (1984) definiu essa fase lag como o tempo extra requerido para se digerir o substrato, quando comparado ao tempo que se gastaria se a taxa de degradação fosse a máxima desde o início do teste.

Em relação ao cálculo da atividade metanogênica, deve-se considerar que diversos autores utilizam diferentes métodos e diferentes formas para expressar os resultados. Monteggia (1991) utilizou médias móveis, já Penna (1994) utilizou faixas de valores para calcular a maior tangente na curva de produção acumulada de metano. Também é utilizada a taxa de produção instantânea, ou seja, o volume de metano produzido dividido pelo período de tempo para produzi-lo.

O objetivo deste artigo é propor uma nova metodologia de cálculo, baseada em modelos polinomiais, da Atividade Metanogênica e compará-la com os métodos correntemente utilizados. Assim, pretende-se que o erro que pode ocorrer devido ao método durante o cálculo seja mínimo e que a atividade metanogênica possa ser calculada em qualquer tempo do experimento.

Modelos matemáticos podem ser usados para representar o comportamento dos dados em uma curva de distribuição Gauss. Então uma função linear é a primeira a ser utilizada para obter o modelo desejado, pela sua simplicidade. Porém, algumas vezes deve-se recorrer a métodos de linearização mais complicados como é, por exemplo, o método de Lineweaver-Burke. Assim, este estudo propõe que modelos polinomiais podem ser utilizados. De acordo com Kleibaum et al. (1998), a função polinomial o comportamento dos dados melhor que qualquer outro tipo de função. As vantagens de utilizar modelos polinomiais para avaliar a atividade metanogênica são:

- 1: Métodos matemáticos são utilizados, ao invés de métodos onde a intuição é necessária;
- 2: É possível usar qualquer planilha eletrônica ao invés de programas específicos e de custo elevado e;
- 3: É possível obter informações a respeito do tempo do máximo valor da atividade metanogênica, atividade metanogênica a qualquer tempo e o tempo da fase lag.

METODOLOGIA

Teste de atividade metanogênica

Os testes de atividade metanogênica realizados neste estudo utilizou um respirômetro anaeróbio desenvolvido por Monteggia (1991) . Assim, a metodologia dos ensaios obedeceu os seguintes passos:

1. Preparou-se uma solução com nutrientes e composto para manter o potencial redox redutor denominada água de diluição;
2. Preparou-se 1L de solução contendo 10% de acetato (utilizar acetato de sódio);
3. Adicionou-se ao digestor um volume de biomassa que correspondesse a uma concentração entre 2.000 mg/L e 5.000 mg/L de SSV;
4. Adicionou-se um volume de água de diluição para elevar o volume total (lodo anaeróbio + água de diluição a 440 mL;
5. Utilizou-se parte da água de diluição para transferir quantitativamente o lodo anaeróbio da proveta para o balão;
6. Borbulhou-se N₂ puro no balão para garantir uma atmosfera inerte (isenta de O₂) no interior do balão;



7. Quando o N_2 foi retirado, fechou-se o balão rápida e convenientemente. Deixou-se em banho termostatzado, à temperatura de 35°C , por, no mínimo, 6 horas (recomenda-se 24 horas) para adaptar a biomassa;
8. O manômetro foi zerado e ajustada a interface de armazenamento de dados e foram verificados possíveis vazamentos;
9. Adicionou-se um volume de solução de acetato que representa $2.000 \text{ mgO}_2/\text{L}$ e registrou-se o tempo no início do teste;

Metodologia de cálculo da atividade metanogênica

A metodologia do cálculo da AME inicia pela análise de gás e a modelagem da composição do gás CH_4 e CO_2 . A sequência de passos para o cálculo é a seguinte:

1. Análise da composição do gás gerado (CH_4 e CO_2) via cromatografia gasosa;
2. Construção da curva que representa a composição percentual de CH_4 e CO_2 e escolha de qual curva será utilizada;
3. Cálculo do volume produzido de CH_4 a cada pulso registrado;
4. Construção do gráfico Produção Acumulada de CH_4 X Tempo;
5. Modelagem da curva obtida;
6. Derivação da equação que melhor representa a curva obtida;
7. Cálculo das tangentes da curva obtida;
8. Análise da concentração da biomassa no reator;
9. Cálculo da AME com o valor da maior tangente obtida, modelando-se a curva de produção de metano, utilizando uma função polinomial mais adequada. A partir da derivada desta função obtiveram-se os valores dos pontos tangentes à curva polinomial obtida e o maior valor da tangente foi utilizado. Dividiu-se este valor pela massa de biomassa contida no digestor.

$$AME = \left(\frac{\Delta P_{met.}}{\Delta t \times SSV} \right), \text{onde:}$$

$\Delta P_{met.}$: variação da produção de metano (mL)

Δt : variação do tempo (h);

SSV: massa de sólidos suspensos totais (gSSV)

RESULTADOS

Curva da composição de gás gerado

Com os resultados das análises do biogás produzido efetua-se, primeiramente a correção dos valores das áreas obtidas com o gás padrão (utilizado para calibrar o cromatógrafo), os quais serão utilizados para corrigir os valores das áreas geradas pelas análises do gás gerado no teste de AME. A Figura 1 apresenta um gráfico típico da composição de biogás, relativamente a CH_4 e CO_2 .

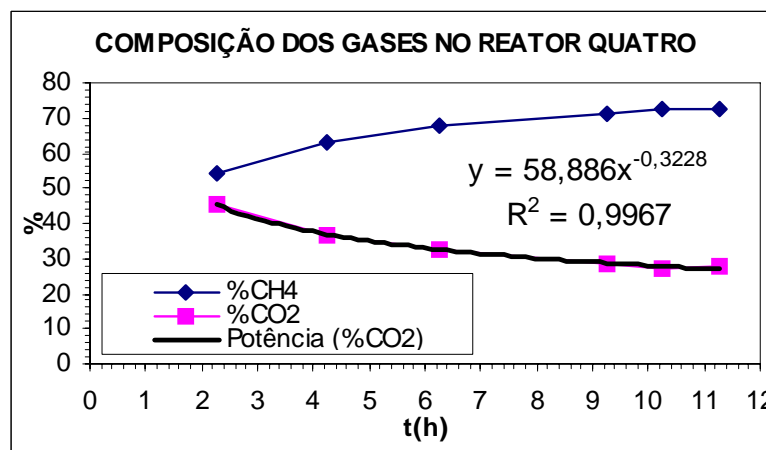


Figura 1. Exemplo de modelamento da composição de gás.

O modelamento da composição de CH_4 e CO_2 no biogás gerado é o único passo em que não é obrigatório a utilização de polinômios. Deve ser utilizada uma função matemática que melhor se ajusta aos dados, ou seja, maior R^2 e melhor reprodutibilidade.

Assim, na escolha da função que representará a composição dos gases ao longo do tempo de monitoramento, deve-se considerar a representatividade desta, ou seja, quanto do comportamento a função estabelecida explica. Para isso faz-se necessário a utilização do R^2 . Quanto mais próximo de 1 maior representatividade terá a função. Assim, pode-se utilizar diretamente a composição de CH_4 ou, indiretamente a composição de CO_2 . Quando se utiliza a composição de CO_2 , a percentagem de CH_4 é calculada pela diferença, ou seja,

$$\%CH_4 = 100 - f(\%CO_2), \text{ onde:}$$

$f(\%CO_2)$: função matemática que representa a composição de CO_2 .

Modelos polinomiais

A utilização de modelos pré-estabelecidos (funções matemáticas) para modelar o resultado de um experimento é uma tentativa de representar o comportamento dentro da distribuição normal de Gauss. Assim, é preferencialmente utilizado o modelo linear ou estabelece-se a linearização dos resultados através de técnicas como, por exemplo, uso de logaritmos, linearização de equações (método de Lineweaver-Burk, de Hanes ou de Hofstee).

No presente estudo, a modelagem proposta é baseada nos modelos polinomiais. Estes representam mais facilmente o comportamento dos resultados referentes à produção acumulada de metano, pois se ajustam na grande maioria dos casos simplesmente mudando a ordem do polinômio. Segundo Kleinbaum *et al.* (1998), o polinômio de melhor ajuste de um experimento é de uma ordem um número menor do que o número de resultados a serem modelados. Porém, o ganho com o aumento da ordem do polinômio pode não ser significativo em termos de R^2 , assim recomenda-se sempre utilizar o polinômio de menor ordem quanto possível. Cuidado que deve ser tomado quando de sua utilização é não considerar somente o valor de R^2 , mas também verificar se o modelo proposto realmente reflete o comportamento dos resultados, ou seja, a reprodutibilidade é boa o suficiente para que não ocorra um produto errôneo. O motivo é que a função do modelo poderá passar pela maioria dos pontos (o que estabelece um R^2 elevado), porém não representar o comportamento em um ou mais intervalo de tempo.

Nas Figuras 2 e 3 fica evidenciada a representatividade dos modelos polinomiais. O R^2 obtido é, na maioria das vezes maior que 0,99 o que torna o modelo confiável no intervalo de tempo do teste.

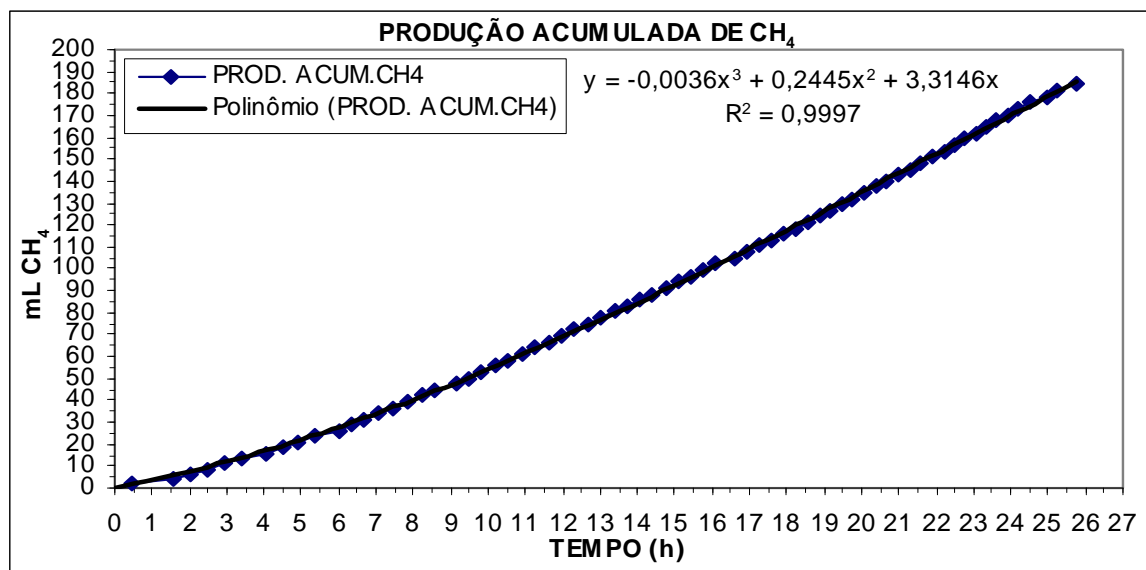


Figura 2: Exemplo de modelo polinomial ajustado a produção acumulada de CH_4 .

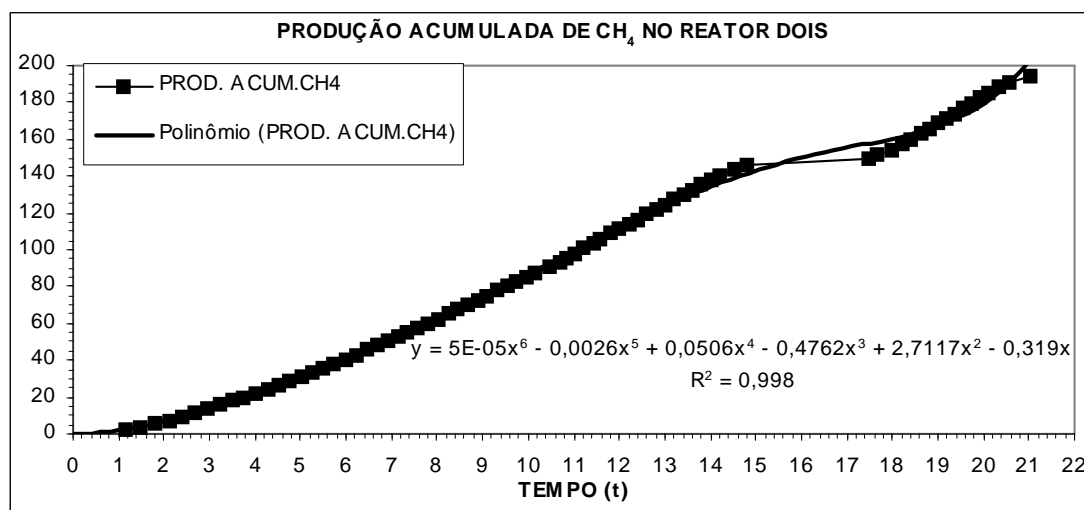


Figura 3: Exemplo de modelo polinomial ajustado à produção acumulada de CH₄.

Comportamento dos modelos polinomiais.

Os modelos polinomiais podem, dentro de um determinado intervalo de tempo, não representar o comportamento observado, apesar de terem um R^2 significativo. Este pseudo melhor ajuste pode induzir o analista a conclusões errôneas, comprometendo o resultado final. Na Figura 4., a produção acumulada de metano está modelada com dois polinômios de ordens distintas. Pode-se observar que, no intervalo de tempo compreendido a partir de 13 horas após o início do teste até seu final, o polinômio de terceira ordem já não representa o comportamento dos resultados obtidos. Além disso, quando se efetua a derivada da função polinomial para calcular a tangente, tanto o valor máximo da tangente quanto o tempo em que ocorre no polinômio de terceira ordem é distinto do observado e calculado através do polinômio de quarta ordem, como mostra a Figura 5.

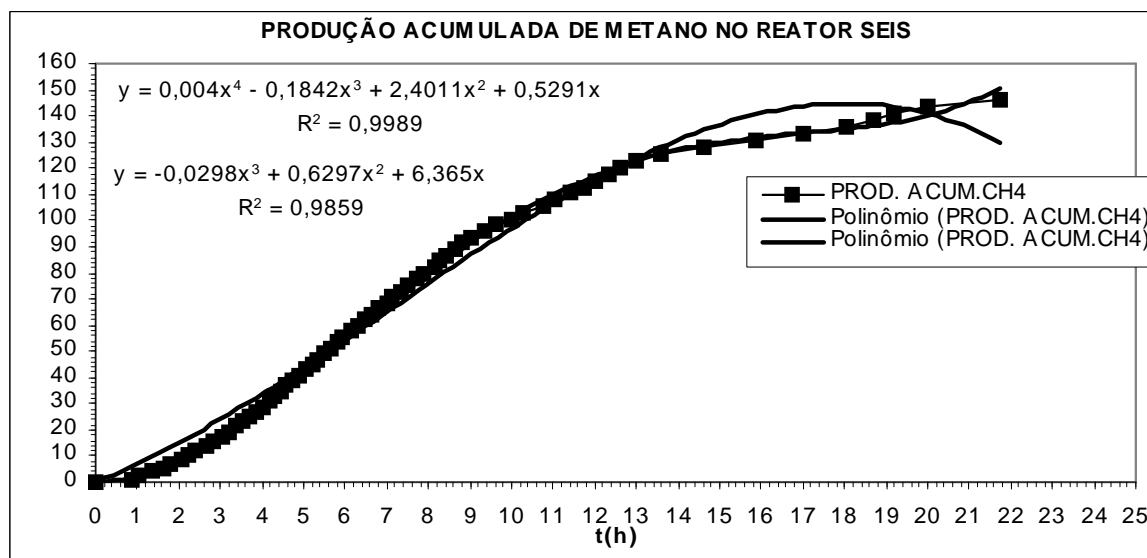


Figura 4: Comparação de modelos de dois polinômios de diferentes ordens.

As derivadas das funções polinomiais de terceira e quarta ordem são as equações, na Figura 5, cujos $R^2=1$.

Para o polinômio $y = 0,004x^4 - 0,1842x^3 + 2,4011x^2 + 0,5291x$, a função derivada é $y' = 0,016x^3 - 0,5526x^2 + 4,8022x + 0,5291$ e o valor máximo, o qual representa a taxa máxima de produção de metano é $12,914 \text{ mLCH}_4 \cdot \text{h}^{-1}$.

Já, para o polinômio $y = -0,0298x^3 + 0,6297x^2 + 6,365x$, a função derivada é $y' = -0,0894x^2 + 1,2594x + 6,365$ e o valor máximo é $10,80 \text{ mLCH}_4 \cdot \text{h}^{-1}$. Esses valores máximos obtidos de taxa de produção de metano ocorrem em momentos distintos e, mais importante, com valores distintos. Tomando como base o valor de $12,914 \text{ mLCH}_4/\text{h}$, a diferença é de 16,37%. Esta diferença pode ser significativa quando se utiliza o teste AME para selecionar e quantificar biomassa anaeróbia utilizada na inoculação de um reator. Assim, deve-se ter cuidado com o grau de polinômio utilizado e, realizar uma análise de aderência (reprodutibilidade) do grau de polinômio considerado com os dados obtidos. Desvios muito elevados podem gerar resultados fora da curva dos dados obtidos.

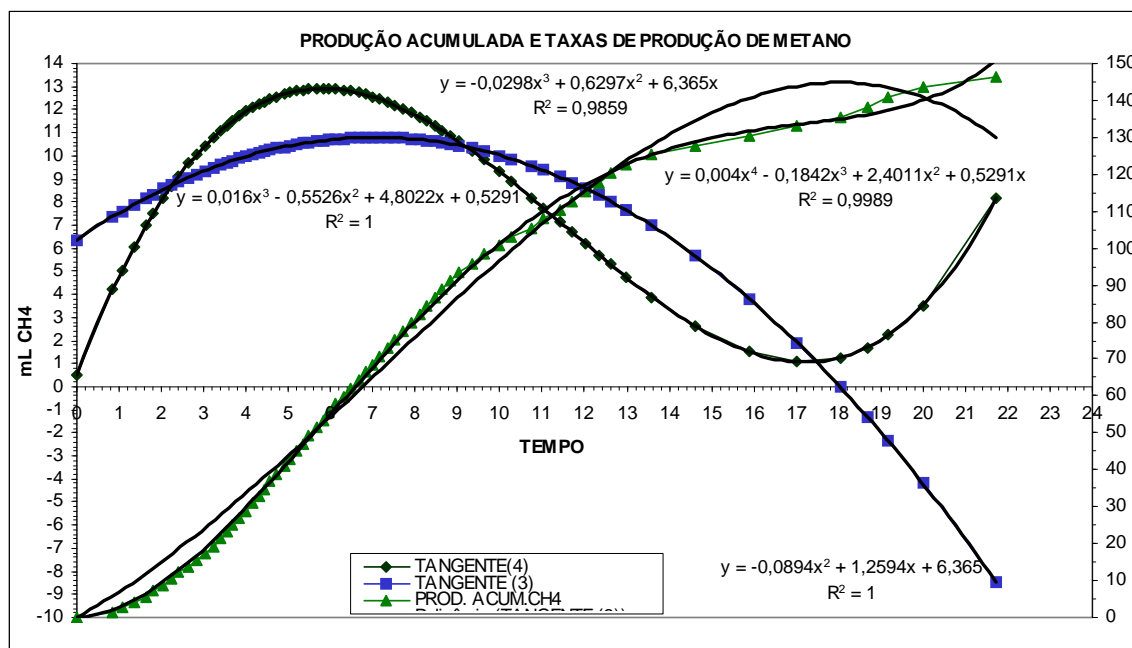


Figura 5 : Comparação de dois polinômios de diferentes ordens para ajuste de curvas de produção acumulada de metano e taxas de produção de metano

Comparação entre diferentes formas de cálculo da Atividade Metanogênica.

Neste item, serão comparados os métodos de média móvel, taxa de produção instantânea, tangente da reta, tangente de uma função polinomial e o método proposto por James *et al.* (1990). Ao invés de serem comparadas as atividades metanogênicas, comparou-se, as taxas de produção de metano como $\text{mL CH}_4/\text{h}$ o que facilita o estudo. Tal consideração decorre do fato de que a divisão da taxa de produção de metano pela concentração de biomassa pois não irá alterar o valor final da AME. No método de média móvel, foram utilizados sempre 5 pontos. Para a taxa de produção instantânea utilizou-se o intervalo de tempo necessário para produzir um pulso, ou seja, ser liberado um determinado volume de cada reator.

A metodologia proposta por Penna (1994), considerando pelo menos quatro pontos, está resumida na Tabela 1.

Tabela 1: Equações da reta

PERÍODO DE TEMPO (h)	NÚMERO DE PONTOS	EQUAÇÃO DA RETA	TAXA DE PRODUÇÃO DE CH_4 ($\text{mL CH}_4/\text{h}$)
6,0 – 6,99	12	$Y = 29,447X - 76,90$	29,447
7,1 – 8,06	12	$Y = 31,625X - 92,372$	31,65
8,06 – 9,06	13	$Y = 33,95X - 111,08$	33,95
8,06 – 8,47	5	$Y = 33,147X - 104,49$	33,147
8,47 – 9,006	8	$Y = 33,99X - 111,42$	33,99



Já, a Figura 6 apresenta o comportamento dos valores de taxa de produção de metano quando considerados os métodos utilizando médias móveis e taxas instantâneas.

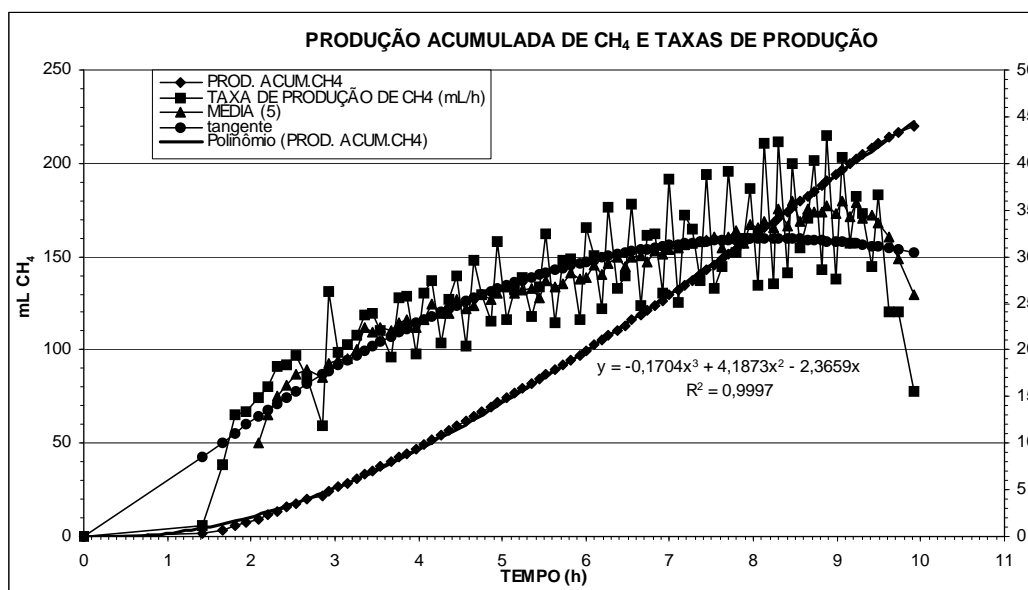


Figura 6: Produção acumulada de metano e taxas de produção.

Pela metodologia de James *et al.* (1990), o intervalo de maior frequência é aquele compreendido entre 8,06 e 9,06, no qual ocorreram 13 pulsos. A média inicial é de 34,74 mL CH₄.h⁻¹ e o intervalo compreendido pelos valores em torno de 20% da média encontrada é 28,95 mL CH₄.h⁻¹ – 42,68 mL CH₄.h⁻¹. A segunda média encontrada é de 34,73 mL CH₄/h.

Tabela 2 : Comparação de diferentes valores de taxa de produção de metano.

MÉTODO DE CÁLCULO DA AME	TAXA DE PRODUÇÃO DE CH ₄ (mL CH ₄ /h)
Taxa de produção instantânea	42,92
Média móvel	35,97
Equação da reta (Penna, 1994)	33,99
Média (James et al., 1990)	34,75
Tangente	31,93

O método de cálculo utilizando a taxa de produção instantânea, apesar de conferir o maior valor de todos, é de difícil reprodutibilidade, além do que, sendo um único intervalo de tempo, pode-se incorrer no erro de que não seja exatamente o valor máximo alcançável. Isso devido ao aumento do intervalo de tempo quando se procede à retirada de amostra de gás. Nos tempos do teste 2,5 h, 5,25 h e 7,67 h foram efetuadas amostragens de gás para fazer a curva de composição do gás gerado. Logo após a amostragem, os valores das taxas de produção de metano caíram, respectivamente, de 19,40 para 17,05 de 27,72 para 23,57 e de 39,18 para 30,45 mL CH₄/h. Além disso, as oscilações naturais do processo também não conferem confiabilidade ao método.

Já os métodos de média móvel, equação da reta e o proposto por James *et al.* (1990) por utilizarem um maior número de pontos, diminuíram esse erro. Na média móvel a questão é: quantos pontos devem ser utilizados para calcular essa média? No caso de um teste rápido, cinco pontos são suficientes, porém se o teste for muito demorado, ou a geração de gás muito baixa esse método já está comprometido, assim como aquele proposto por James *et al.* (1990). Nada impede que um laboratório utilize um número de pontos maior ou menor para o

cálculo da média móvel. Nesse caso, provavelmente os resultados seriam totalmente diferentes daqueles encontrados por outro laboratório utilizando inclusive o mesmo método, porém com um número de pontos diferentes. O método de cálculo proposto por James *et al.* (1990) é baseado na média de maior frequência de pontos de geração de gás. Essa frequência pode ser alterada no momento da amostragem de gás, pois o pesquisador não necessariamente tem o controle desta no período que o teste está ocorrendo.

O método da equação da reta, também em algum momento depende da sensibilidade e perícia do pesquisador. Como estão apresentados na tabela 1, os valores das taxas de produção de metano podem ser distintos conforme o número de pontos escolhidos e também conforme o intervalo de tempo escolhido para a calcular a equação da reta. Essas diferenças tendem a serem mais acentuadas se o tempo de teste for muito grande.

Porém, o método da equação da reta pode ser uma alternativa quando o perfil da curva de produção acumulada de metano apresentar um patamar, ou seja, um período de tempo sem geração de gás, após o qual esta geração será reiniciada. Exemplo deste tipo de curva está apresentado na figura 7.

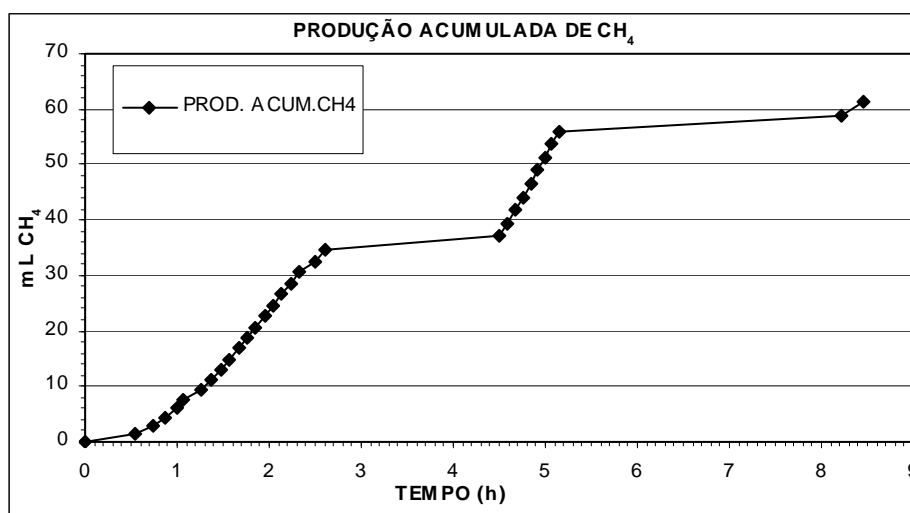


Figura 7: Exemplo de curva gráfico Produção acumulada de metano x Tempo

Neste caso, a proposta apresentada também será válida, visto que uma função linear (equação da reta) nada mais é do que um polinômio de primeira ordem.

Como pode ser analisado na Tabela 2, o método da tangente foi o método que resultou no menor valor da taxa de produção de metano, correspondendo assim, ao menor valor de atividade metanogênica. Porém, este método é mais seguro por não depender da sensibilidade do operador mas sim somente do conhecimento de matemática básica e da operação de uma planilha eletrônica. A segurança do valor a ser utilizado é muito importante quando se utiliza valores de atividade metanogênica para calcular a quantidade de biomassa anaeróbia a ser inoculada em um reator ou para monitorar o desempenho deste.

CONCLUSÃO

A proposta de utilização de um método racional mostra-se consistente, pois sempre em um método o que se procura é que seja seguro, fácil de ser executado e econômico. Assim, entende-se que o Método da Tangente utilizando polinômios vem contemplar essas características e também facilitar a comparação de resultados de atividade metanogênica entre diversos pesquisadores e laboratórios. O fato de que a comparação entre os métodos apresentou diversos valores de taxa de produção de metano corrobora a necessidade de que seja utilizado um método racional, baseado em ferramentas matemáticas e estatísticas para assegurar a validade dos resultados.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BEAL, L. L., Tratamento anaeróbio de efluente de curtume de acabamento associado à membranas de micro e ultrafiltração., 2004, 313 p, - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.
2. JAMES, A.; CHERNICHARO, C. A. L.; CAMPOS, C. M. M. 1990. The development of a new methodology for the assessment of specific methanogenic activity. *Water Research*, Oxford, v. 24, n. 7, p. 813-825.
3. KLEINBAUM, D.G., KUPPER, L.L., MULLER, K.E., NIZAM, A. *Applied regression analysis and other multivariable methods*. 3rd Ed. 798 Duxbury Press. Pacific Grove. p. 1998.
4. MONTEGGIA, Luiz Olinto. 1991. The use of specific methanogenic activity for controlling anaerobic reactors. 307f. Tese (PhD) – University of Newcastle Upon Tyne.
5. MONTEGGIA, L. O.; BEAL, L. L. 1995 Avaliação da biomassa anaeróbia baseada no teste atividade metanogênica específica. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 18., 1995, Salvador. Rio de Janeiro: Abes. p. 19-27.
6. PENNA, Jorge Adilio. Estudo da metodologia do teste de atividade metanogênica específica. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Carlos. v.1, 1994
7. VALCKE, D.; VERTRAETE, W. 1983. A practical method to estimate the acetoclastic methanogenic biomass in anaerobic sludges. *Journal. Water Pollution Control Federation*, Washington, v. 55, n. 9, p. 1191-1195, Sept.
8. ZEEUW, W. J. 1984. Acclimatization of anaerobic sludge for Uasb- reactor start-up. 157p. Tese (Doutorado) - Agricultural University Wageningen.