

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

**RODRIGO SANTOS SOUZA**

**DESENVOLVIMENTO DE EQUIPAMENTO AUTOMATIZADO DE  
BAIXO CUSTO PARA QUANTIFICAÇÃO DE GÁS EM TEMPO  
REAL**

Alfenas/MG  
2022

**RODRIGO SANTOS SOUZA**

**DESENVOLVIMENTO DE EQUIPAMENTO AUTOMATIZADO DE BAIXO  
CUSTO PARA QUANTIFICAÇÃO DE GÁS EM TEMPO REAL**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Ciências Ambientais pelo Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Alfenas.

Linha de pesquisa: Ciências Ambientais  
Orientador: Prof Dr: Rafael de Oliveira Tiezzi;

Coorientador: Prof Dr: Rafael Brito de Moura.

Alfenas/MG

2022

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central

Santos Souza, Rodrigo.

Desenvolvimento de equipamento automatizado de baixo custo para  
quantificação de gás em tempo real / Rodrigo Santos Souza. - Alfenas, MG, 2022.

95 f. : il. -

Orientador(a): Rafael de Oliveira Tiezzi.

Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal  
de Alfenas, Alfenas, MG, 2022.

Bibliografia.

1. Gás. 2. Automação . 3. Resíduos Sólidos. 4. Tratamento Ambiental. 5.  
PBM. I. Tiezzi, Rafael de Oliveira , orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo  
autor.

RODRIGO SANTOS SOUZA

“ DESENVOLVIMENTO DE EQUIPAMENTO AUTOMATIZADO PARA QUANTIFICAÇÃO DE GÁS EM TEMPO REAL EM REATORES ANAERÓBIOS ”

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Ambientais.

Aprovada em: 14 de fevereiro de 2022.

Prof. Dr. Rafael de Oliveira Tiezzi  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Gunther Brucha  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Dra. Renata Riacentini Rodrigues  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Rafael de Oliveira Tiezzi, Professor do Magistério Superior**, em 14/02/2022, às 16:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Piacentini Rodriguez, Professor do Magistério Superior**, em 15/02/2022, às 09:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gunther Brucha, Professor do Magistério Superior**, em 16/02/2022, às 14:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0676154** e o código CRC **B3938C71**.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus, por me dar forças e saúde em um momento tão difícil para o mundo de um modo geral, sendo resiliente e não desistindo apesar de todas as adversidades impostas por diferentes situações.

Agradeço minha família por acreditar em mim, e em minha capacidade, onde nunca duvidaram de meu desenvolvimento, mesmo em momentos de fraqueza e de insucessos diversos. Hoje, começamos a colher os frutos da persistência.

Agradeço também ao meu orientador, Prof. Dr Rafael de Oliveira Tiezzi, por toda a orientação, paciência e conselhos dados para que esse trabalho fosse executado, com critérios que vão muito além da parte técnica propriamente dita. Se não fosse a compreensão do Prof Tiezzi, eu teria deixado o programa de Pós Graduação antes mesmo da Qualificação.

Agradeço ainda, os Professores Doutores, Rafael Brito de Moura, e Laos Alexandre Hirano, por toda colaboração técnica feita, e também por todas as críticas e sugestões realizadas. Agradeço ainda por cada reunião feita via Meet, com a presença de ambos, nesses tempos de pandemia. Friso novamente que a ajuda dos três professores supracitados, foi muito além da relação professor aluno, e levarei isso como modelo por toda minha vida.

Agradeço a Unifal pela estrutura fornecida, e pela prestatividade dos técnicos, seguranças, e pessoal da limpeza, mesmo quando foi necessária a utilização do laboratório até tarde da noite.

Finalmente, agradeço fortemente a Terra de Cultivo Indústria de Fertilizantes, que por meio de seu Diretor Luiz André Penha, financiou a aquisição dos sensores utilizados no desenvolvimento do trabalho, e que, sempre acredita e incentiva a elaboração de projetos sustentáveis. É um orgulho poder trabalhar há 4 anos em um local tão dinâmico, cujos conceitos teóricos aprendidos na graduação e na pós, são vistos na prática, diariamente.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

## RESUMO

A partir do conceito do que é resíduo, e da forma como o consumismo da sociedade aumenta a geração do mesmo, e como tais resíduos geralmente são dispostos de forma irregular, é possível estruturar a viabilidade de instalação de meios que possam mitigar possíveis impactos ambientais causados pela disposição errônea desse “lixo”. Em paralelo, tem-se o desenvolvimento de diversas premissas baseadas em políticas públicas (como RenovaBio e PNRS) que ao longo da última década começaram a vigorar, impulsionando e regulamentando práticas que envolvem a destinação correta de resíduos, e aplicação de tecnologias para desenvolvimento de práticas sustentáveis. Práticas essas que paralelamente a destinação correta de resíduos, também podem gerar biocombustíveis, como biogás, que se dá em reatores anaeróbios pela conversão de matéria orgânica por microrganismos, em gases como metano e dióxido de carbono. Esses gases, por sua vez, podem ser utilizados para gerar energia elétrica, entre outras aplicações. Para saber-se o potencial de geração de biogás utilizam-se de ensaios, chamados PBM. Entretanto, esses ensaios laboratoriais, normalmente, não possuem automação nenhuma, ou possuem alto custo atrelado ao levantamento de dados. Assim, o estudo se aplica de modo a desenvolver um novo sistema para quantificar a geração de gás, de modo totalmente automatizado e com baixo custo. Para isso, utilizou-se microcontroladores e sensores de pressão, que captam dados de 4 em 4 segundos, e os transferem para o Excel, onde pode-se gerar curvas de geração de gás em reatores anaeróbios em situações simuladas, com a utilização de glicose e fermento biológico comercial. Os resultados encontrados na fase de validação fomentam o uso do sistema para quantificação de gás. Em seguida, o protótipo foi submetido ao Delineamento Composto Central, com ajuste ao modelo de Gompertz, e através da ferramenta ANOVA, retornou valores estatísticos significativos para a mensuração da taxa de geração máxima de gás ( $R_m$ ), entretanto, os valores encontrados para a fase lag e para a produção final de gás, não possuíram significância estatística, por motivos alheios à capacidade de mensuração de geração de gás do protótipo.

**Palavras-chave:** Gás, Automação, Resíduos Sólidos, Tratamento Ambiental, PBM.

## ABSTRACT

From the concept of what is waste, and the way in which society's consumerism increases its generation, and as such waste is usually disposed of irregularly, it is possible to structure the feasibility of installing means that can mitigate possible environmental impacts caused by the wrong disposal of this "garbage". In parallel, there has been the development of several premises based on public policies (such as RenovaBio and PNRS) that over the last decade began to take effect, promoting and regulating practices that involve the correct disposal of waste, and the application of technologies for the development of sustainable practices. These practices, in addition to the correct disposal of waste, can also generate biofuels, such as biogas, which takes place in anaerobic reactors through the conversion of organic matter by microorganisms into gases such as methane and carbon dioxide. These gases, in turn, can be used to generate electricity, among other applications. In order to know the potential of biogas generation, tests, called BMP, are used. However, these laboratory tests usually do not have any automation, or have a high cost associated with data collection. Thus, the study is applied in order to develop a new system to quantify gas generation, in a fully automated and low-cost way. For this, microcontrollers and pressure sensors were used, which capture data every 4 seconds, and transfer them to Excel, where gas generation curves can be generated in anaerobic reactors in simulated situations, with the use of glucose and commercial yeast. The results found in the validation phase encourage the use of the system for gas quantification. Then, the prototype was submitted to the Central Composite Design, with adjustment to the Gompertz model, and through the ANOVA tool, it returned significant statistical values for the measurement of the maximum gas generation rate ( $R_m$ ), however, the values found for the lag phase and for the final gas production, did not have statistical significance, for reasons unrelated to the prototype's ability to measure gas generation.

Keywords: Gas, Automation, Solid Waste, Environmental Treatment, BMP.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Peneira autolimpante em funcionamento .....	19
Figura 2- Biodigestor de lagoa coberta em operação.....	20
Figura 3- Esquema de transformação de matéria orgânica em biogás.....	22
Figura 4- Fases microbiológicas da digestão anaeróbia.....	25
Figura 5- Crescimento de arqueias metanogênicas versus temperatura.....	26
Figura 6- Esquema inicial para quantificação PBM .....	28
Figura 7- Exemplo de funcionamento de reator de bancada para ensaio PBM.....	30
Figura 8- Ensaio AMPTS.....	31
Figura 9- Microcontrolador utilizado no experimento.....	37
Figura 10- Equipo inserido na tampa do reator .....	38
Figura 11- Scalp utilizado para calibração do equipamento.....	39
Figura 12- Curva de calibração sensor 01 .....	44
Figura 13- Curva de calibração sensor 02 .....	46
Figura 14- Curva de calibração sensor 03 .....	48
Figura 15- Curvas validação calibração 01 .....	50
Figura 16- Curvas validação de calibração 02 .....	53
Figura 17- Curvas validação de calibração 03 .....	56
Figura 18- Curvas experimento 04 .....	59
Figura 19- Curva média dos sensores .....	62
Figura 20- Curva das médias dos sensores, pelo modelo de Gompertz; (a) sensor01; (b) sensor 02; (c) sensor 03.....	63
Figura 21- Modelo aparato experimental.....	69
Figura 22- Modelo tampa reator.....	70
Figura 23- Ensaio em execução .....	74
Figura 24- Curva de calibração sensor 01 .....	74
Figura 25- Curva de calibração sensor 02 .....	74
Figura 26- Curvas delineamentos 1 e 3.....	75
Figura 27- Curva comparativa médias sensores.....	75
Figura 28- Curva das médias dos sensores, pelo modelo de Gompertz; (a) sensor01; (b) sensor 02; (c) sensor 03.....	77
Figura 29- Curvas delineamentos 1 e 3.....	78
Figura 30- Delineamentos 2 e 4.....	79
Figura 31- Curvas delineamento 5,6 e 7 .....	79
Figura 32- Superfície de resposta para pH e Temperatura (°C), em Rm.....	84

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Dados calibração sensor 01 .....	42
Tabela 2- Dados calibração sensor 02 .....	44
Tabela 3- Dados de calibração sensor 03.....	46
Tabela 4- Dados validação de calibração 01 .....	48
Tabela 5- Dados validação de calibração 02.....	51
Tabela 6- Dados validação de calibração 03.....	54
Tabela 7- Dados validação de calibração 04.....	57
Tabela 8- Média de dados das 3 primeiras validações .....	60
Tabela 9- Modelo de Gompertz aplicado à média dos sensores .....	63
Tabela 10- Configurações para delineamento estatístico realizado .....	73
Tabela 11- Média de leitura dos sensores aplicados ao modelo de Gompertz.....	76
Tabela 12- Dados experimentais - ANOVA.....	80
Tabela 13- Dados Rm ANOVA.....	81
Tabela 14- Dados P ANOVA .....	81
Tabela 15- Dados Lag ANOVA .....	82

## **LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIações**

AMPTS –Automatic Methane Potential

ANOVA –Analysis of Variance

COP –Convenções Quadro das Nações Unidas sobre mudanças climáticas

DBO –Demanda Bioquímica de Oxigênio

DCC – Delineamento Composto Central

DOE – Design of Experiments

DQO – Demanda Química de Oxigênio

GEE – Gases de Efeito Estufa

PBM – Potencial Bioquímico de Metano

PNRS – Política Nacional de Resíduos Sólidos

RS – Resíduos Sólidos

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>13</b>
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	13
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>14</b>
3.1	CLASSIFICAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS .....	14
3.2	CENÁRIO DA DESTINAÇÃO DE RESÍDUOS NO BRASIL .....	14
3.3	POLÍTICAS PÚBLICAS ENVOLVIDAS .....	15
<b>3.3.1</b>	<b>Rio92</b> .....	<b>15</b>
<b>3.3.2</b>	<b>PNRS</b> .....	<b>15</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Novo marco legal do saneamento básico</b> .....	<b>16</b>
<b>3.3.4</b>	<b>COP21</b> .....	<b>16</b>
<b>3.3.5</b>	<b>RenovaBio</b> .....	<b>17</b>
3.4	PREOCUPAÇÃO AMBIENTAL.....	18
<b>3.4.1</b>	<b>Separador de sólidos Pré-Biodigestor</b> .....	<b>18</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Reatores – Biodigestores</b> .....	<b>19</b>
<b>3.4.3</b>	<b>Pós tratamento</b> .....	<b>20</b>
3.5	DIGESTÃO ANAERÓBIA .....	21
<b>3.5.1</b>	<b>Hidrólise</b> .....	<b>22</b>
<b>3.5.2</b>	<b>Acidogênese</b> .....	<b>23</b>
<b>3.5.3</b>	<b>Acetogênese</b> .....	<b>23</b>
<b>3.5.4</b>	<b>Metanogênese</b> .....	<b>24</b>
3.6	INDICADORES QUE AFETAM A BIODIGESTÃO .....	25
<b>3.6.1</b>	<b>Pressão parcial de Hidrogênio</b> .....	<b>26</b>
<b>3.6.2</b>	<b>Temperatura</b> .....	<b>26</b>
<b>3.6.3</b>	<b>pH e ácidos voláteis</b> .....	<b>27</b>
<b>3.6.4</b>	<b>Nutrientes</b> .....	<b>28</b>
3.7	MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DE BIOGÁS.....	28
3.8	DESIGN EXPERIMENTAL .....	31
<b>3.8.1</b>	<b>DOE</b> .....	<b>31</b>
<b>3.8.2</b>	<b>DCC</b> .....	<b>32</b>
<b>3.8.3</b>	<b>ANOVA</b> .....	<b>32</b>
<b>3.8.4</b>	<b>Modelo de Gompertz</b> .....	<b>33</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>35</b>

4.1	PRÉ-TESTES .....	35
4.2	CALIBRAÇÃO.....	35
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>42</b>
5.1	CALIBRAÇÃO.....	42
5.1.1	Validação de calibração 01.....	48
5.1.2	Validação de calibração 02.....	51
5.1.3	Validação de calibração 03.....	53
5.1.4	Validação de calibração 04.....	56
5.1.5	Análise entre curvas .....	59
<b>6</b>	<b>DESENVOLVIMENTO DE UM MÓDULO PARA MONITORAMENTO EM TEMPO REAL DE PRESSÃO EM BIORREATORES.....</b>	<b>65</b>
6.1	INTRODUÇÃO .....	65
6.2	METODOLOGIA.....	68
6.2.1	Desenvolvimento do módulo de monitoramento.....	68
6.2.2	Integração do módulo aos biorreatores .....	69
6.2.3	Calibração.....	70
6.2.4	Preparação para validação de dados .....	70
6.2.5	PROTOCOLO DE ENSAIOS .....	72
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	74
6.3.1	Calibração.....	74
6.3.2	Validação de dados.....	75
6.3.3	Resultado protocolo de ensaios .....	78
6.3.3.1	Ensaio 1 e 3.....	78
6.3.3.2	Ensaio 2 e 4 .....	78
6.3.3.3	Ensaio 5,6 e 7.....	79
6.3.3.4	ANOVA .....	80
6.4	CAPACIDADE DOS SENSORES .....	84
6.5	CONCLUSÃO .....	84
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>86</b>
<b>8</b>	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>87</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>88</b>

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a disposição de Resíduos Sólidos (RS) permeia uma importante análise socioambiental. Razões como escassez de recursos, deficiências administrativas e falta de conscientização ambiental afetam a correta destinação de resíduos no país (BRASIL, 2020). A disposição incorreta de RS pode provocar a degradação do solo, a contaminação de recursos hídricos e a poluição atmosférica (Van ELK, 2007). Frisa-se que, segundo as definições da NBR 10.004, lodos de sistemas de tratamentos, líquidos cujas particularidades tornam inviáveis seu lançamento em corpos hídricos, também são classificados como RS (ABNT, 2004).

A Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), decretada pela Lei 12.305, veio definir as responsabilidades dos geradores de RS, com o estabelecimento de instrumentos econômicos para a realização dessa gestão, e com inserção de prazos para que os municípios adequassem sua disposição final de resíduos (BRASIL, 2010). Após seguidas perdas de prazo, por parte dos municípios, sancionou-se a Lei 14.026, conhecida como Marco Legal do Saneamento Básico no País, que remanejou e definiu novos prazos limites, que se dão entre 2021 e 2024, de acordo com critérios locais e censitários (BRASIL, 2020).

No que se refere as emissões de Gases de Efeito Estufa (GEE), os mesmos podem ser gerados em diferentes setores como energia, processamentos industriais, agroindústria e de resíduos (UNFCCC, 1998). Em 1997, teve-se a elaboração do Protocolo de Kyoto, que estipulou metas de redução nas emissões de GEE (UNFCCC, 1998). As metas levantadas pelo Protocolo de Kyoto, voltaram à pauta em novos momentos, principalmente, durante às Convenções-Quadro das Nações Unidas sobre Mudanças do Clima (COP).

Na edição COP21, o Brasil participou aderindo ao clube de Alta Ambição nas negociações, e expondo importantes premissas para os próximos anos no que se refere à diminuição dos GEE pelas atividades desenvolvidas no país, desempenhando assim, papel construtivo durante a Convenção (ROVERE, 2016; BOFF, 2015).

O RenovaBio (Lei 13.576), vem contribuir com premissas para o atendimento aos compromissos firmados na COP21, contribuindo e promovendo adequações no que se refere à eficiência do modelo energético do País, e fomentando políticas para

a expansão da produção e uso de biocombustíveis na matriz energética nacional (BRASIL, 2017).

Seguindo o advento das premissas do Mecanismo de Desenvolvimento Limpo, do Acordo de Paris (COP21), e do RenovaBio, a implementação de projetos utilizando biodigestão, surge com alto potencial sustentável, pois atua de forma dupla, destinando corretamente os RS, auxiliando no atendimento às premissas da Lei 12.305, e também, podendo gerar biogás, utilizando-o de forma a ir de encontro às premissas preconizadas pelo RenovaBio (Van ELK, 2007).

O processo anaeróbio é reconhecidamente um meio que se adequa ao tratamento de resíduos Classe II A – Não Inertes, provenientes de atividades com considerável carga orgânica, (CHERNICHARO, 2007; CAMPOS, 2003; VON SPERLING, 2014). Atrelado a isso, se torna interessante a possibilidade de captação do biogás gerado no processo de digestão anaeróbia, devido a uma oportunidade de mercado (HOLM-NIELSEN *et al.*, 2009).

Por muitos anos, evitou-se utilizar biodigestores em grande escala no Brasil, devido aos custos de implementação e manutenção dos mesmos. Entretanto, a partir da virada do século, houve avanço tecnológico suficiente para a redução desses custos. Ainda assim, faltam equipamentos desenvolvidos especificamente para o uso do biogás (OLIVEIRA, 2006)

O monitoramento do processo de biodigestão utiliza-se de parâmetros específicos que variam de Resíduo para resíduo para estimar a produção de biogás. Parâmetros esses que são obtidos através de ensaios laboratoriais, que são chamados Potencial bioquímico de metano (PBM). Entretanto, na maioria das vezes, a falta de mão de obra especializada para realizar tais ensaios, os custos embarcados para utilizar a aparelhagem necessária para realização dos ensaios laboratoriais, torna inviável o monitoramento do sistema de forma prática, sendo utilizados como alternativa, parâmetros pré-estabelecidos em literaturas (KUNZ, 2018).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver um sistema de medição quantitativa de gás, automatizado e de baixo custo, possibilitando realizar o monitoramento em tempo real da geração de gás em reatores anaeróbios de bancada.

## 2 OBJETIVOS

O objetivo geral visou desenvolver um sistema totalmente automatizado de baixo custo para medição quantitativa de gás em reatores anaeróbios de bancada.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para atingir o objetivo geral do trabalho, alinhou-se os seguintes objetivos específicos:

- a) realizar experimentos operacionais para ajustar os sensores e suas respectivas curvas de calibração;
- b) realizar simulação de cenário específico, com posterior análise estatística, com a utilização dos sensores;
- c) determinar o efeito do pH e da temperatura no sistema, por meio de análise de variância;
- d) determinar condição operacional ótima para o sistema;

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As premissas públicas recentes, convergem de modo a incentivar a utilização de recursos renováveis na matriz energética brasileira. A biodigestão anaeróbia atua satisfatoriamente de forma a transformar frações de resíduos em gás, entretanto, o custo para ensaios laboratoriais, e para monitoramento desses sistemas, é alto. Assim, o presente trabalho trata sobre a elaboração de um sistema de quantificação de gás em reatores anaeróbios. Diante disso, com propósito de discorrer sobre os principais conceitos presentes no trabalho, serão apresentados neste tópico, classificações de resíduos; definições sobre premissas públicas; sistemas de tratamento ambiental; sistemas de medição de gás e utilização de modelos estatísticos.

#### 3.1 CLASSIFICAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS

Para efeito de melhor entendimento da contextualização do estudo, há de se definir o que é RS. Segundo a NBR 10.004, RS se dá por: Resíduos nos estados sólidos e semi-sólidos, resultantes de atividades de origem industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola, de serviços e varrição. O termo resíduo sólido abrange também, lodos provenientes de sistemas de tratamento de água, e líquidos cujas particularidades tornem inviável seu lançamento na rede pública de esgoto, ou corpos hídricos, ou que, ainda, precisem de tratamento ambiental para isso (ABNT, 2004).

Ainda segundo a NBR 10.004, os RS são classificados em Classe I e Classe II, e ainda subdivididos em tipo A ou tipo B. Resíduos Classe I são aqueles que em amostras representativas apresentam periculosidade, podendo aferir risco à saúde pública ou ao meio ambiente. Resíduos Classe II não apresentam riscos em seu manuseio. A subdivisão, tipo A, indica que os RS são “Não Inertes”, contando com propriedades como biodegradabilidade e solubilidade em água, sendo assim, o tipo de RS usado no presente estudo (ABNT, 2004).

#### 3.2 CENÁRIO DA DESTINAÇÃO DE RESÍDUOS NO BRASIL

A geração de RS nos municípios brasileiros vem crescendo ao longo dos últimos anos. Em 2019, foram geradas 79 milhões de toneladas de RS. Desse montante, por sua vez, 92% do volume total foi coletado. Isso significa que ao menos 6 milhões de toneladas de resíduos gerados nos municípios foram deixados junto à fonte geradora (ABRELPE, 2020). Entretanto, dos 92% coletados, 40,5% foram

destinados de forma incorreta, o que significa que aproximadamente 29,5 milhões de toneladas foram dispostas de forma incorreta, seja em aterros controlados ou lixões a céu aberto. Essa situação impacta diretamente 77 milhões de brasileiros, gerando um custo de 1 bilhão de dólares por ano para tratamento ambiental e de saúde pública (ABRELPE, 2020).

A gravimetria dos resíduos supracitados apresenta uma composição formada por 45,3% de matéria orgânica (Classe IIA-Não Inerte), sendo contemplada por sobras e perdas de alimentos, resíduos verdes e madeiras. Isso representa 36 milhões de toneladas de resíduos que viram, majoritariamente, larga fonte de emissões de GEE. Tratamentos, como digestão anaeróbia, apresentam a perspectiva de economia de aproximadamente 2,3 kg de metano por tonelada destinada, ou ainda, o equivalente a 64,4 kg de dióxido de carbono por tonelada corretamente destinada (ABRELPE, 2020).

### 3.3 POLÍTICAS PÚBLICAS ENVOLVIDAS

#### 3.3.1 Rio92

Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento. Foi sediada no Rio de Janeiro, em Junho de 1992 e reuniu 178 Estados-Nações, onde a denominada “Cúpula da Terra” firmou diretrizes para garantir o desenvolvimento sustentável do planeta no Século XXI, gerando como resultados importantes a criação da Convenção sobre Mudanças Climáticas, a Convenção sobre a Diversidade Biológica, a Declaração do Rio, a Declaração sobre Florestas e a Agenda 21, elaborando ainda planos de ação para se alcançar o desenvolvimento sustentável global a médio e longo prazos (SÃO PAULO, 1997).

A Agenda 21 nasceu a partir das premissas da resolução 44/228 da Assembleia Geral das Nações Unidas, de 1989, onde foi reconhecida a necessidade de se adotar uma abordagem equilibrada e integrada em questões que tangem às mudanças climáticas, ao meio ambiente em geral e ao desenvolvimento sustentável (CNUMAD 1992).

#### 3.3.2 PNRS

A Política Nacional de Resíduos Sólidos, instituída pela Lei 12.305 define a implementação de conceitos como coleta seletiva; gerenciamento de resíduos sólidos; rejeitos; responsabilidade compartilhada (BRASIL, 2010). Sendo fruto de anos de

esforços que reuniram em um único texto, princípios, objetivos, instrumentos e diretrizes para gestão de RS no país, sendo assim um marco que traz respaldo à luta pela preservação ambiental no Brasil (RAUBER, 2011).

A Lei 12.305 ainda define como instrumento da PNRS, entre outros, o inventário anual de resíduos sólidos, criando assim o Sistema Nacional de Resíduos Sólidos, disposto no Artigo 12:

“Art. 12. A União, os Estados, o Distrito Federal e os Municípios organizarão e manterão, de forma conjunta, o Sistema Nacional de Informações sobre a Gestão dos Resíduos Sólidos (Sinir)” (BRASIL,2010).

### **3.3.3 Novo marco legal do saneamento básico**

Sancionado a partir da Lei nº14.026, altera parte do texto da Lei nº 12.305, inferindo novos prazos para a disposição final de rejeitos para Municípios que tenham elaborado plano intermunicipal de RS ou plano municipal de gestão integrada de RS, visto que os quatro anos propostos pela Lei 12.305 não foram cumpridos (BRASIL, 2020). Os novos prazos são:

“I - até 2 de agosto de 2021, para capitais de Estados e Municípios integrantes de Região Metropolitana (RM) ou de Região Integrada de Desenvolvimento (Ride) de capitais; II - até 2 de agosto de 2022, para Municípios com população superior a 100.000 (cem mil) habitantes no Censo 2010, bem como para Municípios cuja mancha urbana da sede municipal esteja situada a menos de 20 (vinte) quilômetros da fronteira com países limítrofes; III - até 2 de agosto de 2023, para Municípios com população entre 50.000 (cinquenta mil) e 100.000 (cem mil) habitantes no Censo 2010; e IV - até 2 de agosto de 2024, para Municípios com população inferior a 50.000 (cinquenta mil) habitantes no Censo 2010”(BRASIL, 2020).

### **3.3.4 COP21**

O encontro realizado em dezembro de 2015, em Paris, da Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre Mudanças do Clima, trouxe pontos importantes à mesa para debate, contando com cooperação entre os 195 países participantes, e com pontos positivos, como a decisão de manter o aquecimento global abaixo de 2°C, e também a decisão dos países ricos repassarem a partir de 2020, 100 bilhões de dólares/ano

para os países em desenvolvimento para melhorias contras mudanças climáticas (BOFF, 2015).

O Brasil foi protagonista durante as negociações, aderindo à Coalizão de Alta Ambição, com altas metas de redução de GEE. O País propôs ainda, que até 2030, 23% da matriz energética brasileira seja proveniente de fontes renováveis (sem considerar hidrelétricas) (BRASIL, 2015; ROVERE, 2016). Entretanto, apesar de pontos positivos significativos, os resultados gerais ainda ficaram muito longe de serem suficientes para estabilizar a concentração de GEE na atmosfera em níveis seguros, dentro de modelos sustentáveis (ROVERE, 2016).

### **3.3.5 RenovaBio**

Nome fantasia dado à Política Nacional de Biocombustíveis, disposta pela Lei nº13.576, que pontuou seus objetivos conforme discorre o Artigo 1:

“I - contribuir para o atendimento aos compromissos do País no âmbito do Acordo de Paris sob a Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre Mudança do Clima; II-contribuir com a adequada relação de eficiência energética e de redução de emissões de gases causadores do efeito estufa na produção, na comercialização e no uso de biocombustíveis, inclusive com mecanismos de avaliação de ciclo de vida; III-promover a adequada expansão da produção e do uso de biocombustíveis na matriz energética nacional, com ênfase na regularidade do abastecimento de combustíveis; e IV - contribuir com previsibilidade para a participação competitiva dos diversos biocombustíveis no mercado nacional de combustíveis” (BRASIL, 2017).

O Comitê RenovaBio, trabalha em paralelo ao Comitê de Mudanças Climáticas, recomendando ao CNPE (Conselho Nacional de Políticas Energéticas), limites máximos para as metas estabelecidas no Acordo de Paris, de modo a assegurar menor intensidade de carbono na matriz nacional de combustíveis (BRASIL, 2017).

### 3.4 PREOCUPAÇÃO AMBIENTAL

O lançamento de RS em corpos hídricos pode levar a desequilíbrios ecológicos e poluição ambiental em função de fatores como a redução do teor de Oxigênio Dissolvido na água, ao aumento da DBO do sistema e também da carga orgânica integrante no meio (OLIVEIRA,1993; OLIVEIRA, 2004; VON SPERLING, 2007).

Da mesma forma, se os RS forem usados como fertilizante agrícola (uso em fertirrigação), e, não estiverem estabilizados, pode-se gerar um grande risco de poluição ambiental (OLIVEIRA, 2004).

Os gases que são lançados ao meio ambiente durante a fertirrigação podem causar desconforto em pessoas e animais próximos à região. Se a concentração do gás for alta, o mesmo pode inclusive provocar a morte de pessoas. Os principais gases são amônia, sulfeto de hidrogênio e metano (OLIVEIRA, 2004).

Quando o resíduo é aplicado diretamente ao solo, em grandes quantidades, e sem estar estabilizado, pode haver a sobrecarga da capacidade de filtração do solo, e retenção dos nutrientes do resíduo. Quando isso ocorre, alguns nutrientes podem atingir águas subterrâneas e contaminar lençóis freáticos (OLIVEIRA,1993).

Caso haja forte precipitação pluviométrica na área fertirrigada ou forte diluição do resíduo lançado ao solo, pode haver carreamento de nutrientes afetando diferentes camadas do solo (OLIVEIRA,1993).

Sabe-se que há inúmeros meios para se tratar RS com alta carga orgânica. Uma técnica já difundida, é a digestão anaeróbia. Essa técnica é baseada na degradação da matéria orgânica por meio do desenvolvimento bacteriano presente no próprio resíduo (VON SPERLING, 2007, CAMPOS,1999).

Assim, serão apresentados nas próximas seções, meios de tratamentos que são voltados a proporcionar qualidade ambiental, e que também possam funcionar concomitantes ao bom funcionamento da geração de biogás através da biodigestão.

#### 3.4.1 Separador de sólidos Pré-Biodigestor

Técnica que visa separar partículas maiores contidas nos RS, dividindo-as em uma fração líquida, mais fluída, mas com concentração significativa de elementos fertilizantes solúveis, e, uma fração sólida, que pode evoluir para uso como composto orgânico na agricultura, por conta de seu alto valor agrônômico (OLIVEIRA,1993).

A separação sólido líquida, pode ser um assunto polêmico. Existe receio de que a separação de sólidos possa comprometer a geração de biogás, pela retirada de

sólidos voláteis do sistema. Entretanto, a separação de sólido líquida visa impedir o acúmulo de sólidos fixos no biodigestor. Esses materiais, podem se acumular na estrutura de tratamento, e diminuir a capacidade de geração de biogás, além de alterar completamente o regime de funcionamento do reator, alterando também o tratamento ambiental aplicado. A tendência a depósito no fundo do biodigestor, pode depender de fatores hidráulicos, como por exemplo, a utilização de estruturas que façam a mistura completa do resíduo incidente no sistema, o que evita sua deposição (KUNZ, 2019). O alto depósito de partículas inertes no fundo de biodigestores, por longos prazos, pode gerar a saturação da estrutura, diminuindo significativamente a vida útil do mesmo (MIELLE, 2015).

As técnicas de separação podem ser químicas ou físicas. Enquanto os métodos químicos se dão pela adição de produtos para precipitar partículas e material coloidal, a separação física se dá pela inserção de peneiras, móveis ou estacionárias, caixas de areia, ou ainda, decantadores, todos com o objetivo de separar o material sólidos grosseiros (LOEHR, 1974). A figura 1 apresenta o funcionamento de uma peneira rotativa autolimpante, normalmente utilizada concomitantemente a outros sistemas conjuntos, como um decantador.

Figura 1- Peneira autolimpante em funcionamento



Fonte: Do autor

### 3.4.2 Reatores – Biodigestores

Biodigestores são reatores biológicos, que corretamente projetados garantem tratamento de características físico-químicas de resíduos e geração de biogás (KUNZ,

2019). São amplamente utilizados para o tratamento ambiental de resíduos de origem animal. O processo utiliza microrganismos presentes no próprio RS para consumir os substratos inseridos no meio, diminuindo assim, a concentração de matéria orgânica do sistema. O processo como um todo, gera gases, como metano, dióxido de carbono e Ácido Sulfídrico (CAMPOS *et al.*, 1999).

Há vários modelos de biodigestores encontrados na literatura, como o modelo Indiano, modelo Chinês, reator tipo UASB, reator CSTR, lagoa anaeróbia coberta e lagoa anaeróbia coberta com misturador (KUNZ, 2019).

A construção de um Biodigestor anaeróbio de lagoa coberta, se dá pela inserção de um tanque escavado no solo, completamente impermeabilizado, e coberto por mantas, de PVC (Policloreto de Vinila), ou PEAD (Polietileno de Alta Densidade), que se dá por um polímero de estrutura simples, que é obtido através da polimerização do eteno e possui grande resistência química. Os dois materiais possuem baixa permeabilidade a gases, e também, flexibilidade para acumular biogás. A estrutura em geral possui geometria trapezoidal, variando de acordo com a topografia e características do solo da região. O RS de entrada é fermentado, gerando biogás e chorume. O biodigestor deve contar ainda com válvulas de segurança, como “flares”, que são queimadores utilizados para que o excesso de gás no sistema não rompa as instalações da manta do biodigestor (KUNZ, 2019).

Figura 2- Biodigestor de lagoa coberta em operação



Fonte: Do autor

### 3.4.3 Pós tratamento

Apesar de haver tecnologias para a remoção final dos nutrientes do efluente do biodigestor, o que possibilita o reuso da água residuária ou o lançamento em corpos

hídricos, o custo é impactante e pode prejudicar a viabilidade financeira do empreendimento (MIELE *et al.*, 2015).

Assim, a reciclagem do digestato como fertilizante orgânico traz apelo sustentável ao processo, e diminui custos para destinação do material. A dose a ser aplicada ao solo, deve ser primeiramente baseada em uma análise agronômica caracterizando valores de macro e micronutrientes presentes no digestato, e, posteriormente, deve considerar recomendações específicas para o tipo de solo em questão, e ainda, para a demanda das culturas implementadas na área e sua expectativa de rendimento (KUNZ, 2019).

A aplicação excessiva de fertilizantes pode causar impactos ambientais significativos devido ao aumento das perdas de nutrientes do solo e sua transferência para o meio ambiente. Deve-se então, adotar medidas de monitoramento, como a realização de análise periódicas do solo a ser fertirrigado (KUNZ, 2019).

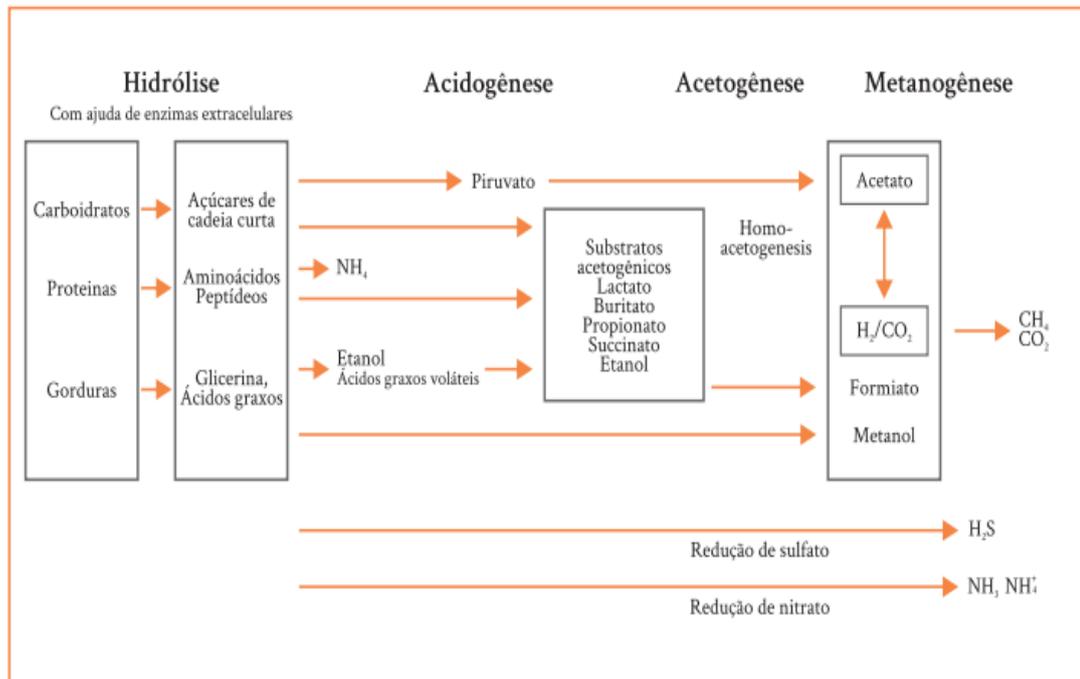
### 3.5 DIGESTÃO ANAERÓBIA

Como o próprio nome já diz, o processo de digestão anaeróbia é baseado no desenvolvimento de colônias de microrganismos que predominantemente não utilizam oxigênio para degradação da matéria orgânica, ou produção de energia (VON SPERLING, 2007; CAMPOS, 2003; OLIVEIRA, 1993).

O processo de biodigestão anaeróbia possui seu agente atuante principal, na ação microbiana desencadeada dentro do sistema. Comunidades de bactérias e arqueias transformam a matéria orgânica em massa celular, metano, gás carbônico e outros microconstituintes (VON SPERLING, 2014; CHERNICHARO, 2007).

No que se refere à conversão de matéria orgânica em metano e dióxido de carbono, literaturas evidenciam quatro etapas principais nas quais há bioconversão, o esquema básico segue na figura 3 e será detalhado nos próximos títulos (VON SPERLING, 2007; CAMPOS, 2003).

Figura 3- Esquema de transformação de matéria orgânica em biogás



Fonte: BRASIL, 2019

### 3.5.1 Hidrólise

Primeira fase de reação acarreta na conversão do material orgânico particulado em outros de menor peso molecular, ou seja, degrada compostos como lipídios, polissacarídeos e proteínas, em substâncias orgânicas mais simples e solúveis (monômeros). O processo utiliza exo-enzimas que são excretadas por bactérias fermentativas hidrolíticas (CAMPOS. *et al.*, 1999; CHERNICHARO, 2007).

Quanto mais complexa a matéria orgânica presente no sistema, mais difícil sua degradação e mais importante é a hidrólise na velocidade global do sistema, podendo ser a etapa principal da digestão anaeróbia, visto que a velocidade da conversão da matéria orgânica até sua chegada ao biogás é limitada pela velocidade da hidrólise (CAMPOS *et al.*, 1999; CHERNICHARO, 2007).

A matéria orgânica é transformada de forma que as proteínas são degradadas por polipeptídios para formar aminoácidos, os carboidratos por sua vez, se transformam em mono e dissacarídeos, e os lipídeos (gorduras), convertidos em ácidos graxos de longa cadeia de carbono e glicerina. Essa velocidade de degradação por meio da hidrólise varia de substrato a substrato. Carboidratos são transformados em poucas horas, já lipídios e proteínas demoram alguns dias para sua degradação,

afetando diretamente a geração de biogás (CAMPOS *et al.*, 1999; CHERNICHARO, 2007).

### **3.5.2 Acidogênese**

Os compostos provenientes do processo de hidrólise são absorvidos nas células das bactérias acidogênicas hidrolíticas e excretados como ácidos orgânicos de cadeias mais simples, aminoácidos, açúcares, dióxido de carbono, hidrogênio, amônia e pequenas concentrações de álcoois, aldeídos, cetonas e massa celular (VON SPERLING, 2014).

Na Acidogênese, os monos e dissacarídeos são degradados em piruvato e, posteriormente, em ácido láctico e etanol. Os ácidos graxos provenientes dos lipídios são oxidados na forma de acetato, e os aminoácidos resultam em acetato, dióxido de carbono e sulfeto de hidrogênio (KUNZ, 2019).

Os monômeros formados são utilizados como substratos por bactérias anaeróbias e facultativas e, essas últimas, podem metabolizar material orgânico por vias oxidativas. Isso é importante, pois a presença de Oxigênio Dissolvido pode se tornar tóxica para arqueias metanogênicas, se não removido na Acidogênese (CAMPOS *et al.*, 1999).

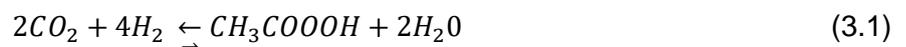
Durante a fase acidogênica, a Demanda Química de Oxigênio (DQO) se mantém inalterada, pois ainda não há estabilização da matéria orgânica (VON SPERLING, 2014)

### **3.5.3 Acetogênese**

Se dá pela oxidação dos produtos da acidogênese em substratos apropriados para a fase metanogênica. Assim, ácidos orgânicos são transformados em ácidos com cadeias cada vez menores, como ácidos propiônico e butírico e, posteriormente degradados em ácido acético, com a concomitante produção de hidrogênio gasoso e dióxido de carbono, por meio de bactérias acetogênicas. A quantidade de hidrogênio gerada faz, ainda, com que o pH do meio diminua. (CHERNICHARO, 2007; VON SPERLING, 2014).

A acetogênese é extremamente importante para o processo como um todo, pois as bactérias dessa fase estabelecem relação de sintrofia, com bactérias homoacetogênicas e também com as arqueias metanogênicas.

Enquanto as bactérias homoacetogênicas regem o equilíbrio da direção de reação de consumo de hidrogênio e gás carbônico para produção de acetato (Equação 3.1), as arqueias metanogênicas, ao consumirem o hidrogênio gasoso, contribuem termodinamicamente para a formação de ácidos de cadeia curta, assegurando assim que ambos grupos microbianos apresentem crescimento, proporcionando a viabilidade da produção de acetato resultante de ácidos orgânicos. Nessa fase, 70% da DQO do sistema é convertida em ácido acético, e o restante em hidrogênio (CAMPOS *et al.*, 1999; KUNZ,2019).



#### 3.5.4 Metanogênese

Última fase do processo, ocorre em meio estritamente anaeróbio, onde todo carbono da biomassa é convertido a dióxido de carbono e metano, por meio das arqueias metanogênicas, que por sua vez, são divididas de acordo com suas vias metabólicas, em acetoclástica e hidrogenotróficas. As arqueias acetoclásticas produzem cerca de 70% do total de metano, que por sua vez é convertido do acetado gerado nas fases anteriores, e é usado como substrato. Já as arqueias hidrogenotróficas oxidam hidrogênio na presença de dióxido de carbono, utilizado como receptor final de elétrons, e são responsáveis por cerca de 30% da geração de metano (CHERNICHARO, 2007; KUNZ, 2019).

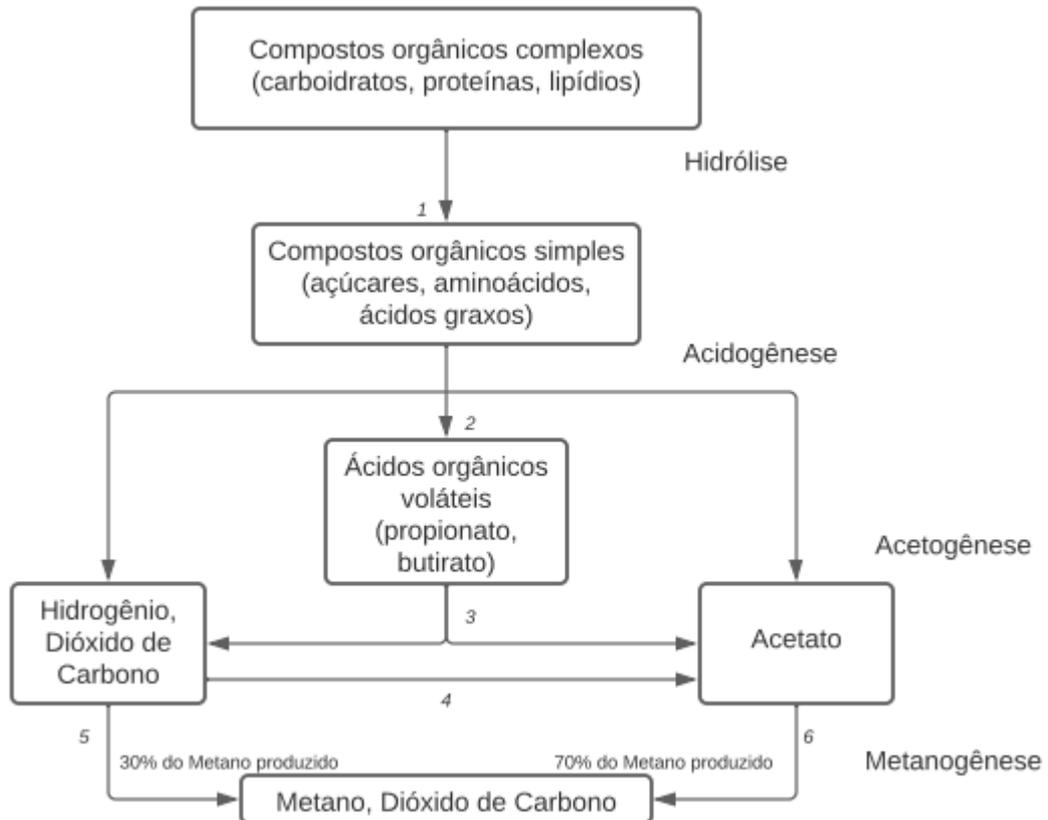
Apesar de ser um grupo bastante diversificado, apenas dois gêneros de arqueias metanogênicas são capazes de utilizar o ácido acético como substrato. Assim, enquanto o gênero de arqueias acetoclásticas *Methanosarcina* prevalece atuando acima de concentrações 0,001 M de acetato, o gênero de arqueias acetoclásticas *Methanosaeta* prevalece abaixo desse nível de acetato (CHERNICHARO, 2007 apud ZINDER1993). Esse por sua vez pode ser mais sensível ao pH e também necessita de um tempo de retenção de sólidos maior em comparação com a *Methanosarcina* (CHERNICHARO, 2007 apud SCHIMIDT e AHRING, 1996). Por sua vez, apenas o gênero *Methanosarcina* é capaz de utilizar também hidrogênio e metilaminas para a produção de metano (CHERNICHARO, 2007 apud SOUBES,1994).

As arqueias acetoclásticas também são sensíveis à amônia. Quando encontrada em altas concentrações, prejudica o desenvolvimento de microrganismos, o que pode desregular o meio e implicar em predomínio de arqueias hidrogenotróficas. Nesse

caso o acetato restante pela falta de arqueias acetoclásticas, é oxidado por bactérias homoacetogênicas, sendo usado como substrato pelas arqueias hidrogenotróficas, também resultando em metano (KUNZ, 2019).

As sequências metabólicas e os grupos microbianos envolvidos nas etapas da digestão anaeróbia, estão sintetizadas na figura 4.

Figura 4- Fases microbiológicas da digestão anaeróbia



Fonte: VON SPERLING, 2014

onde 1,2: Bactérias hidrolíticas fermentativas; 3: Bactérias acetogênicas produtoras de hidrogênio; 4: Bactérias acetogênicas consumidoras de hidrogênio; 5: Bactérias metanogênicas utilizadoras de hidrogênio; 6: Bactérias metanogênicas acetoclásticas

### 3.6 INDICADORES QUE AFETAM A BIODIGESTÃO

Apesar do processo de biodigestão anaeróbia possuir fases bem definidas, há parâmetros importantes para o sucesso da degradação da matéria orgânica, e conversão em metano. O monitoramento desses indicadores é muito importante para que se possa acompanhar tanto a remoção da DQO do sistema, resultando em um bom tratamento ambiental, quanto a conversão em metano, gerando assim mais biogás.

### 3.6.1 Pressão parcial de Hidrogênio

A pressão parcial de hidrogênio durante a Acidogênese afeta o estado de oxidação dos produtos, assim, se for muito alta, resultará em produtos com maior quantidade de carbono (SOWERS, 2009).

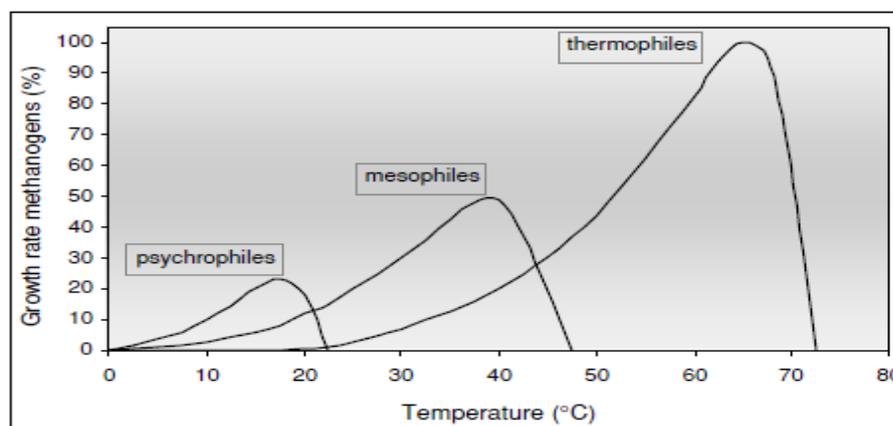
Desempenha papel chave na metanogênese, pois se tiver valores acima de 0,0001 bar, as bactérias acetogênicas são inibidas pelo excesso de hidrogênio, paralisando a produção de ácidos de cadeia curta. Essa perturbação pode resultar ainda em queda acentuada do pH, resultando em acúmulo de ácido e paralização de todo processo no reator. Os valores dependem da disponibilidade de arqueias consumidoras de hidrogênio e das características do substrato utilizado, ou seja, as pressões baixas só podem ser mantidas se o hidrogênio formado for rapidamente removido pelas arqueias hidrogenotróficas (SOWERS, 2009).

### 3.6.2 Temperatura

O fator temperatura é um dos mais importantes aspectos na biodigestão anaeróbia. Microrganismos não são capazes de controlar sua temperatura interna, assim, a temperatura de dentro das células é regulada pelo ambiente externo. A temperatura pode afetar o processo de forma a influenciar a taxa das reações enzimáticas no meio, e também influenciar as taxas de difusão do substrato utilizado (CHERNICHARO, 2007).

No que se refere às arqueias metanogênicas, há três subdivisões de desenvolvimento baseado na temperatura do processo. As arqueias psicrófilas agem entre 4° e 15°C, as arqueias mesófilas, atuam entre 20° e 40 °C. As arqueias termófilas por sua vez, atuam acima de 45°C (CHERNICHARO, 2007).

Figura 5- Crescimento de arqueias metanogênicas versus temperatura



Fonte: CHERNICHARO, 2007 apud VAN LIER *et al.*, 1997

Analisando a curva de desenvolvimento das arqueias, encontram-se dois intervalos de temperatura ideais para o crescimento metanogênico. A primeira faixa se estende entre 30° e 35°C, e é dado pelo intervalo ideal mesofílico. Já a segunda faixa ótima, se dá entre 50° e 55°, nessa situação, se beneficiam o crescimento de arqueias termófilas. Entretanto, quando se aplica o aquecimento à 50°C em escala real em biodigestores, o resultado não é muito satisfatório, isso se dá por características do processo, como a energia necessária para aquecer tanto toda a estrutura, e por empobrecer a qualidade no sobrenadante do processo (CHERNICHARO, 2007).

As arqueias metanogências acetoclásticas são as mais sensíveis ao aumento de temperatura, que tem efeito na pressão parcial de hidrogênio, influenciando todo metabolismo sintrófico do sistema. Termodinamicamente, reações como a quebra do propionato em acetato, dióxido de carbono e hidrogênio, são energeticamente mais favoráveis em altas temperaturas (KUNZ, 2019).

A queda de desempenho do biodigestor relacionada à temperatura, ainda foi identificada por Massé *et al.* (2003), que evidencia que o desempenho do biodigestor anaeróbio diminuiu significativamente, quando a temperatura do meio caiu de 20° para 10°C. Parkin e Owen (1986) também evidenciaram que mudanças bruscas na temperatura podem afetar negativamente o desempenho da biodigestão.

Souza *et al.*, (2002) avaliaram em biodigestores de bancada, com dejetos suínos, com temperaturas de 25°, 35° e 40°C, com agitação de substrato, que, a produção mínima de biogás acumulado em bancada, se deu com a menor temperatura de reator.

### **3.6.3 pH e ácidos voláteis**

Uma fração significativa dos problemas na digestão anaeróbia pode ser atribuída ao acúmulo de ácidos voláteis e, conseqüentemente, a queda do pH. Os principais efeitos adversos se relacionam ao fato de que, arqueias metanogências crescem no intervalo de pH entre 6,7 e 7,5. No entanto, bactérias acidogências crescem até a pH 4,5. Os microrganismos fermentativos, por sua vez, se adaptam entre pH 4 e 8,5. Assim, caso haja alguma alteração no pH do meio, abaixo de 6,7 e acima de 4 há acúmulo significativo de ácidos orgânicos voláteis, o que pode desestabilizar totalmente o biodigestor, atrapalhando assim a conversão de matéria orgânica, em metano (KUNZ, 2019).

### 3.6.4 Nutrientes

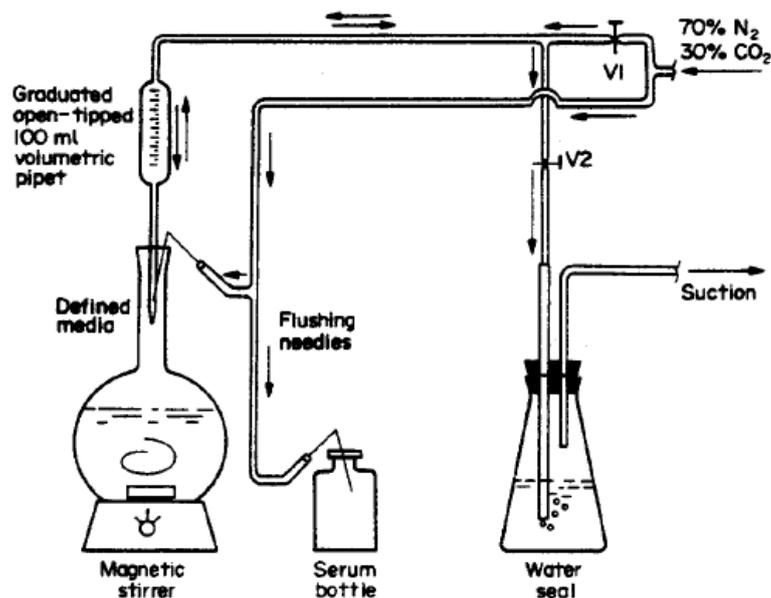
Os nutrientes requeridos para a digestão anaeróbia são, primordialmente, Carbono, Nitrogênio, Hidrogênio e Fósforo. Assim, é de suma importância a atuação das bactérias desnitrificantes, que reduzem o nitrato ( $NO_3^-$ ) a nitrogênio gasoso ( $N_2$ ). Caso a relação C/N do meio seja muito alta, o processo é delimitado pela disponibilidade de nitrogênio. Caso a relação C/N seja baixa, haverá excesso de amônia o que é tóxico ao meio e inibirá as atividades bacterianas (MERKEL, 1981).

Há também, situações críticas relacionadas aos compostos de enxofre. Assim, na ocorrência da sulfetogênese, bactérias redutoras de sulfato, competem com bactérias metanogênicas por ácidos voláteis, acetatos, etc, transformando-os em dióxido de carbono e gás sulfídrico. Em casos extremos, as bactérias podem substituir as metanogênicas, cessando completamente a produção de metano (VON SPERLING, 2014)

### 3.7 METODOS DE QUANTIFICAÇÃO DE BIOGÁS

Conhecido como Potencial Bioquímico de Metano (PBM), foi definido por Owen *et al.*, (1979) como um procedimento que mensurasse a biodegradabilidade de forma anaeróbia de uma amostra, comparando os valores encontrados em frascos com substratos, de valores de fundos encontrados em amostras “brancas”. A figura 6 evidencia o esquema utilizado por Owen *et al.*, (1979) em seu experimento.

Figura 6- Esquema inicial para quantificação PBM



Fonte: OWEN *et al.*, 1979

Apesar de ser um método simples e importante para avaliar substratos e, ainda, otimizar projetos de biodigestores anaeróbios, é um método no qual não há muitos protocolos de ensaio, assim, podem existir muitos fatores que podem influenciar os resultados do ensaio de um projeto para outro (RAPOSO *et al.*, 2011).

Os parâmetros de análise mais comum para se conduzir ensaios PBM são DQO ou sólidos voláteis. A DQO é descrita medindo a quantidade de um agente oxidante químico necessário para oxidar totalmente uma amostra de resíduos, assim o cálculo da DQO é um indicador do equivalente da matéria orgânica que ainda é suscetível à oxidação (ANGELIDAKI; SANDERS, 2004 apud APHA 1992).

Na previsão de composição de biogás produzido, é importante avaliar, além da quantidade de metano e dióxido de carbono produzido, também o pH. Isso ocorre pois o dióxido de carbono pode ser parcialmente dissolvido na fase líquida do reator ou convertido em bicarbonato, afetando o pH. Assim, a porcentagem de metano no biogás será maior do que o previsto quimicamente pelo cálculo estequiométrico (ANGELIDAKI; SANDERS, 2004).

O ensaio se dá pela adição de uma amostra de substrato, em um inóculo, com diluição em água dentro de um reator anaeróbio de bancada. Deve-se respeitar, ainda o espaço vazio no frasco, na hora da inoculação, pois o mesmo será preenchido pelo biogás gerado, esse espaço total é chamado de *Headspace*. Há várias técnicas de concentração de inóculo e substratos, sendo escolhida a concentração baseada no objetivo do estudo em questão (ANGELIDAKI *et al.*, 2009; OWEN *et al.*, 1979; HANSEN *et al.*, 2004; HEERENKLAGE *et al.*, 2001). Mais um fator importante, é a temperatura do reator. Segundo Hansen *et al.*, (2004), aquecer o reator a temperaturas termofílicas (55°C) faz com que o início das reações químicas aconteça de forma mais rápida. Entretanto, o uso dos ensaios com temperaturas mesofílicas (35°C) garante que o ensaio em bancada seja mais facilmente replicado em escala real, visto os problemas elencados no que se refere ao aquecimento de biodigestores em escalas termofílicas.

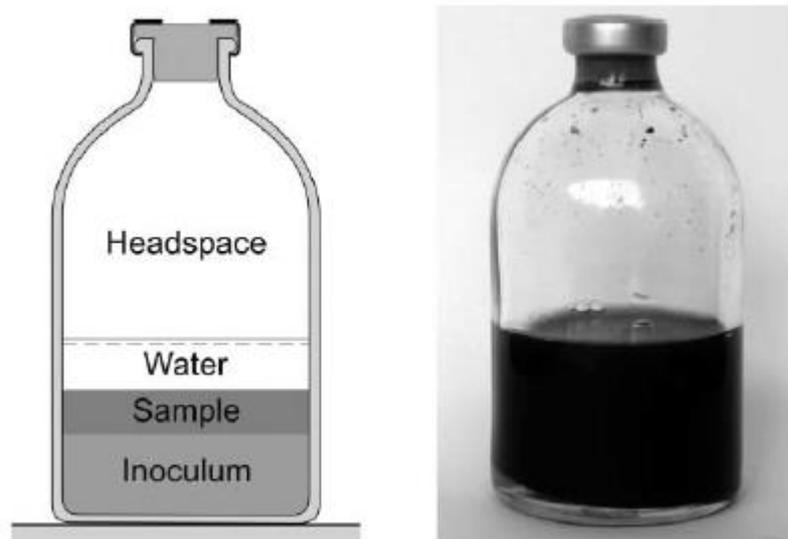
Com o desenvolvimento dos experimentos, nota-se aumento da pressão interna dos frascos, pela produção de biogás. Assim, desenvolveu-se o método manométrico *mPBM* para que, pela diferença de pressão encontrada na parte interna dos frascos, fosse realizada a quantificação da geração de biogás nos mesmos. Assim, McEniry e O'Kiely (2012) utilizaram de um transdutor de pressão, para quantificar a geração de

gás no headspace dos reatores de bancada, com tomadas de dados após os dias 2, 5, 8, 13, 18, 27 e 35 de incubação. O total de biogás gerado foi estimado pela equação (3.2):

$$\text{Produção de gás (ml)} = \frac{V_h}{P_a} * P_t \quad (3.2)$$

onde Vh: Volume do headspace (ml); Pa: Pressão atmosférica (hPa); Pt: Pressão medida no headspace (hPa);

Figura 7- Exemplo de funcionamento de reator de bancada para ensaio PBM



Fonte: ANGELIDAKI *et al.*, 2009

Embora o ensaio PBM seja importante para visualizar a qualidade do substrato e o potencial de geração de metano do meio, seu rendimento prático será sempre menor, pois uma fração do substrato é utilizada para sintetizar a biomassa bacteriana (ANGELIDAKI; SANDERS, 2004).

A metodologia para a realização do método manométrico abriu possibilidades para que se colocassem sensores acoplados a microcontroladores para aferir em tempo real a geração de biogás. Entretanto, o alto custo de manutenção e aquisição de equipamentos é uma desvantagem significativa (GUWI, 2004 apud SIMÕES; OKAWA, 2020).

Atualmente, o método mais moderno para realização de ensaios automatizados de bancada, se dá pelo The Automatic Methane Potential Test System (AMPTS). Apesar de possuir custo considerável, o AMPTS fornece dados online em tempo real em termos de medição de metano, por meio de deslocamentos de líquidos e fluabilidade (SIMÕES; OKAWA, 2020). A metodologia utilizada pelo aparelho

passou por testes em mais de 40 laboratórios europeus, em análises comparativas com ensaios PBM tradicionais, e, a metodologia AMPTS apresentou resultados satisfatórios (HAFNER *et al.*, 2020). O método automatizado apresentou bons resultados, ainda, em trabalhos realizados por McEniry e O’Kiely (2012) para ensaios com pastagens como substrato e por McEniry *et al.*, (2013) em ensaios com silagens. O método foi utilizado ainda por Himanshu *et al.*, (2017) de forma a comparar ensaios feitos com silagens e cevadas como substratos, entre a metodologia AMPTS e *mPBM*, encontrando resultados semelhantes após 35 dias de experimentos.

Figura 8- Ensaios AMPTS



Fonte: HIMANSHU *et al.*, 2017

### 3.8 DESIGN EXPERIMENTAL

Todo experimento é realizado visando investigar características de um sistema, tais características observadas são os resultados avaliados. Esses resultados, devem ser analisados de acordo com os objetivos dos experimentos (PARK, 2007).

Os efeitos e as variações estatísticas de duas ou mais situações podem ser definidos por planejamentos fatoriais, que possibilitam analisar o potencial de interferências dentro de um conjunto de respostas de interesse. Essa modelagem foi sintetizada no método de superfície de resposta e é composta por conjunções onde as respostas se baseiam em variáveis diferentes, sendo o objetivo final, modelar e otimizar as próprias respostas encontradas (HILL; HUNTER, 1966)

#### 3.8.1 DOE

Design of Experiments (DOE) é um modelo que auxilia a determinar a alocação e método dos experimentos que serão realizados, de forma a satisfazer os objetivos pré-definidos do trabalho. DOE, pode ser considerado um metamodelo, ou seja, é o modelo de um modelo. Exemplificando: Uma função pode ser aproximada por alguns valores de função específicos. A função aproximada é um metamodelo (PARK, 2007).

No DOE, os experimentos são realizados e os resultados são analisados estatisticamente. Fatores são fontes que influenciam a função objetivo do experimento, são dadas pelas variáveis do experimento. Níveis são os valores dessas variáveis/fatores, e a função característica se aplica ao objetivo do design experimental, e é responsável por maximizar ou minimizar os resultados do sistema (MONTGOMERY,1991).

### 3.8.2 DCC

O Delineamento Composto Central (DCC) é um fatorial de  $2^k$  em que o ponto central e os pontos em níveis inferiores e superiores são adicionados. O modelo DCC é aplicável quando a curvatura do modelo estatístico utilizado for significativa e importante (ANDERSON; WHITCOMB, 2010). Ele fornece o menor número de repetições de ensaios nas quais pode-se extrair um número máximo de respostas baseado nas variações dos fatores em um planejamento fatorial, o que reduz os custos e o tempo de realização dos experimentos (ATKINSON; DONEV, 1992; CAVAZUTTI, 2012).

O DCC se destaca ainda por poder ser realizado sequencialmente, auxiliando na direção da otimização do sistema, pois a partir do momento em que se encontra a região com o resultado ótimo, avalia-se a parte curvilínea existente, maximizando assim os resultados do sistema (MATEUS; BARBIN; CONAGIN, 2008), o que vai de encontro com o que afirmam Montgomery e Myers (1995), que inferem que a maioria das aplicações de modelos de superfície de resposta, são de origem sequenciais.

O número de ensaios a partir das variações dos fatores “k”, é dado a partir da equação (3.3):

$$N^{\circ} \text{ de ensaios} = r * 2^k + cp \quad (3.3)$$

onde: “r” se refere ao número de repetições genuínas nos fatores “k”, e “cp” se dá pelo número de repetições nos pontos centrais. (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

### 3.8.3 ANOVA

A “Analysis of Variance” (ANOVA) é possivelmente a ferramenta mais utilizada para analisar os resultados dos experimentos (ANDERSON; WHITCOMB, 2010). O método decompõe a variabilidade total observada dentro de uma variável de resposta, em partes separadas que são atribuíveis a cada uma das fontes de variação, com base no modelo estatístico escolhido para o experimento. Dessa forma, ANOVA isola

a variação devido aos principais efeitos de cada um dos fatores experimentais e de suas interações, e finalmente avalia o “valor estatístico” desses fatores de variação, fornecendo informações sobre seus efeitos na solução ótima, e suas interações (ANDERSON; WHITCOMB, 2010; MYERS *et al.*, 2009).

A ferramenta realiza ainda análise de regressão, que permite ajustar as relações entre variáveis experimentais e variáveis resposta, o que é extremamente relevante para projetos de superfície de resposta (MYERS *et al.*, 2009).

#### **3.8.4 Modelo de Gompertz**

O modelo de Gompertz é um dos modelos sigmóides mais usados para experimentos que envolvem crescimento. Possui ajustes para experimentos desde o crescimento de plantas, pássaros, peixes, tumores e crescimento bacteriano. Foi aplicado pela primeira vez por Benjamin Gompertz, em 1825. Ele o utilizou para observar a relação entre o aumento da taxa de mortalidade e a idade, o que chamou de o “Esgotamento médio do poder de um homem para evitar a morte” e foi primeiramente usado pela indústria de seguros para calcular riscos de morte (TJORVE; TJORVE, 2017).

A versão inicial proposta por Gompertz foi usada até a década de 1940, quando Hartley (1948, apud TJORVE e TJORVE, 2017) evidenciou como linearizar o modelo tradicional. Já Wright (1926, apud TJORVE e TJORVE, 2017) foi o primeiro a propor o modelo de Gompertz para o crescimento biológico, e, com o passar dos anos, pesquisadores começaram a ajustar o modelo aos seus dados por regressão, e o modelo de Gompertz tornou-se o favorito para os tipos de crescimento de organismos (STONER, 1941; apud TJORVE; TJORVE, 2017).

O modelo foi utilizado por López *et al.*, (2004) e por Skinner (1994) para mostrar de forma satisfatória o crescimento microbiano. O modelo continua evoluindo e sendo parametrizado por pesquisadores, o que aumenta seu ramo de aplicação, como o modelo sugerido por Zwietering *et al.*, (1990) que atualmente é um dos mais comuns para crescimento bacteriano (TJORVE; TJORVE, 2017).

Utilizando como base o crescimento bacteriano, e, fazendo ajustes em sua parametrização, o modelo de Gompertz, também vem sendo usado com sucesso na quantificação de biometano, e também na utilização de ensaios PBM, conforme evidenciado por Budiyono *et al.*, (2013), Etuwe *et al.*,(2016) e por Shamurad *et al.*, (2019).

A parametrização do modelo de Gompertz para geração de gás, é disposta na equação (3.4):

$$Y = P * \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{Rm * e(1)}{P} (\delta - t) + 1 \right] \right\} \quad (3.4)$$

onde  $Y$  é a produção cumulativa de metano no tempo  $t$ ,  $P$  é o potencial máximo de metano (mL),  $Rm$  é a taxa de produção de gás por hora (mL/h),  $e$  é uma constante matemática (2,718) e  $\delta$  é dada pela fase lag, referente ao início da geração de gás no sistema, em horas (h) (SHAMURAD *et al.*, 2019).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 PRÉ-TESTES

O início do experimento consistiu em construir 6 reatores para que os mesmos simulassem o comportamento da biodigestão anaeróbia com resíduos de suinocultura, sucos a base de soja e soro de leite em um banho maria a 36°C. Os reatores foram vedados com rolhas de borracha e resina de silicone. Tais rolhas tinham adaptações para que houvesse o engate de uma seringa em sua ponta. Por meio dessa seringa seria realizada a quantificação de biogás gerado diariamente. Para a análise do biogás seria utilizado o kit de Análise de Biogás da Alfakit Ltda em parceria com a Embrapa, analisando os seguintes gases: dióxido de carbono, metano e sulfeto de hidrogênio.

Durante a execução do primeiro ensaio, ocorreram várias situações que prejudicaram seu correto desenvolvimento. Primeiramente, um reator estourou pelo excesso de gás gerado. Outro fator ligado a pressurização, foi a ocorrência do escape de rolhas de mais dois reatores. Percebeu-se também o vazamento nos registros colocados para engate de seringas. Por fim, não havia nenhum instrumento manométrico para aferir a pressão do sistema, realizando a leitura apenas de forma volumétrica, com a seringa. Quando se analisou a concentração de metano no biogás, obteve-se a média das análises na casa de 74% de metano. Esse valor é acima do apresentado em literaturas para geração em biodigestores de lagoa coberta, que são da ordem de 62 a 67% (KUNZ, 2014). Essa discrepância na concentração de metano, evidencia que o equipamento utilizado na aferição da qualidade de biogás pode não ter apresentado resultados fiéis aos reais. Assim, decidiu-se abortar a continuação da metodologia descrita, e iniciar nova metodologia para quantificação de gás.

### 4.2 CALIBRAÇÃO

Pensando em melhorar a execução do trabalho, toda a estrutura foi refeita, e desenvolveu-se nova metodologia do início para quantificação de gás. Assim, optou-se por retirar as medições qualitativas, no que se refere a análise de metano e de sulfeto de hidrogênio.

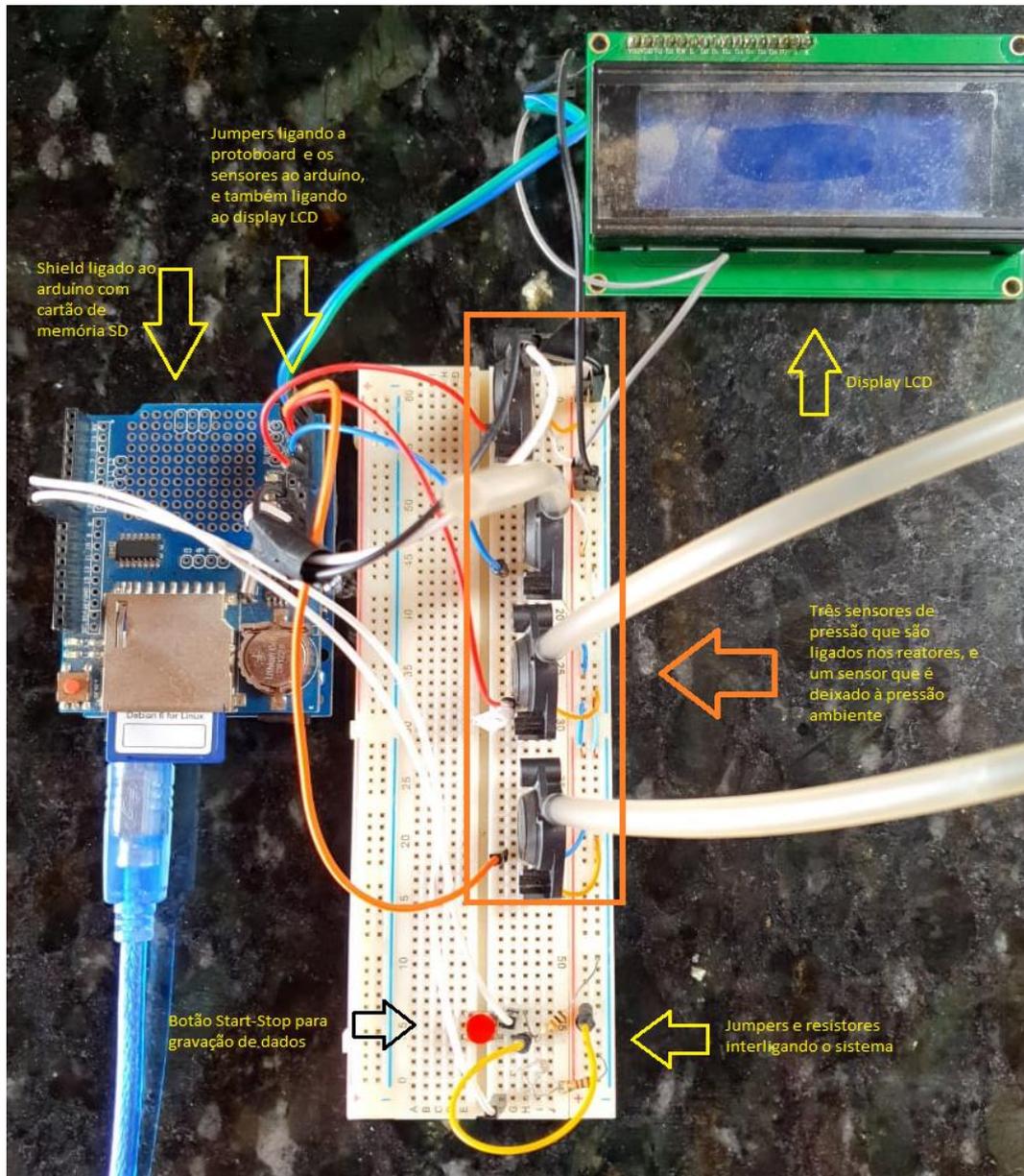
Foi utilizado glicose como material a ser fermentado dentro dos reatores. A fermentação da glicose, gera dióxido de carbono, não podendo ser caracterizado como biogás por conta da ausência de metano. Frisa-se que foi escolhido utilizar

glicose, por conta da estequiometria bem conhecida da fermentação da mesma, o que facilitou comparar os resultados experimentais, com a literatura.

Para a nova estrutura, decidiu-se utilizar sensores de pressão, em uma adaptação do método manométrico, como feito por McEniry e O’Kiely (2012). A fim de gerar maior quantidade de dados, decidiu-se utilizar microcontroladores para verificar com maior rapidez a diferença de pressão no sistema. Assim, optou-se por utilizar um Arduíno como microcontrolador de baixo custo, inserindo nele programação a fim de replicar outros modelos de trabalho, como o experimento desenvolvido por Shamurad *et al.*, (2019).

O Arduíno possui um Shield acoplado em sua estrutura, para que seja possível inserir um cartão de memória no mesmo. Na protoboard são dispostos 4 sensores de pressão diferenciais, do modelo MPX5700dp. Dos 4 sensores, 3 são conectados aos respectivos reatores (para realização de ensaios em triplicata), e o quarto é utilizado como referência para a pressão ambiente. Os sensores são interligados por jumpers, que fazem a conexão entre protoboard e a placa do microcontrolador. O Arduíno, por sua vez, também é jumpeado a um visor LCD, que foi programado para plotar a medição de pressão em tempo real. Por fim, há um botão na protoboard que ao ser acionado inicia a gravação de todos os dados captados, no cartão de memória. Assim, de 4 em 4 segundos, houve a tomada de dados pelos 4 sensores, e o armazenamento no cartão SD, para que fosse possível após o término do experimento, inseri-lo no computador e plotar a curva de geração de gás baseado nessa diferença de pressão. A aparelhagem realizada junto ao Arduíno segue evidenciada na figura 9.

Figura 9- Microcontrolador utilizado no experimento



Fonte: Do autor

Utilizou-se como reator, frascos de Borosilicato de 1L, entretanto, na tampa do frasco, fez-se uma adaptação para que fosse possível a captação da pressão no interior do reator. Assim, fez-se um furo no centro da tampa do frasco, e introduziu-se um equipo para infusão intravenosa, utilizando Araldite® para fixa-lo sem vazamentos no sistema. A ponta da mangueira do equipo foi introduzida na extremidade de leitura do sensor de pressão, permitindo assim a tomada de dados do interior do reator. O novo modelo de reator segue evidenciado na figura 10.

Figura 10- Equipamento inserido na tampa do reator

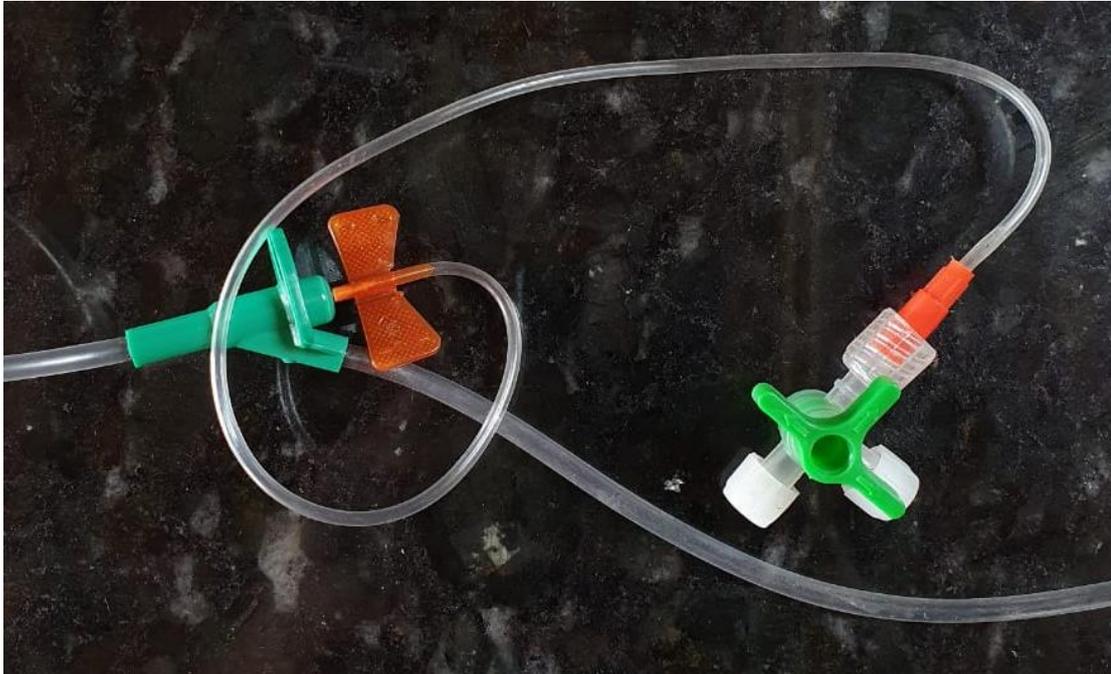


Fonte: Do autor

Para decidir sobre a utilização do sensor em experimentos de bancada, primeiramente foi realizada a calibração do sistema como um todo. Para isso, foi acoplado um scalp na saída lateral do equipamento atrelado ao reator. Com o código do Arduino rodando, acoplou-se uma seringa no adaptador do scalp, e injetou-se ar no sistema, de 10 em 10 ml, até chegar no total de 300 mL anotando sempre a diferença de valor incidente no display LCD. Assim, realizou-se o presente procedimento para os 3 sensores acoplados aos reatores, de forma a realizar 3 equações da reta para os respectivos sensores. Os valores encontrados para Y, eram substituídos na programação incidida no Arduino, de forma a ajustar a calibração do equipamento.

Fez-se o ajuste da calibração 3 vezes para cada um dos sensores. Após o término da calibração, pode-se encontrar um valor para a variação mínima de gás em mL, durante a menor variação de pressão no sensor.

Figura 11- Scalp utilizado para calibração do equipamento



Fonte: Do autor

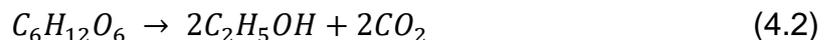
Após o ajuste das curvas de calibração do sensor, os mesmos foram liberados para validação da calibração em experimentos de bancada. Assim, foram usados para as realizações das validações, 200 mL de água, 1g de glicose PA e 1g de fermento biológico comercial (pesados em balança analítica de precisão). Os reatores ficaram imersos em banho maria configurado a 34°C e com duração de 9 horas. Frisa-se que os experimentos de bancada para validação sempre foram feitos com as mesmas condições operacionais, e também foram sempre realizados com os 3 sensores atuando simultaneamente, de forma a comparar os resultados dos 3 com a variação de pressão ambiente. Após o experimento referente a segunda validação de calibração, suspeitou-se da posição dos frascos no banho maria, visto que o sensor três apresentava resultados discrepantes dos demais, assim, ajustou-se o mesmo, a fim de garantir a mesma temperatura no banho maria, para os três reatores. Durante o quarto experimento para validação de calibração, o banho maria automatizado apresentou problemas, assim, a temperatura foi ajustada manualmente com termômetros a cada 30 minutos, o que refletiu diretamente nos resultados encontrados, o que será detalhado nos próximos títulos.

Após a realização da validação de calibração, fez-se a transferência dos dados armazenados em arquivo texto no cartão de memória, para um arquivo Excel. Feito isso, são realizadas comparações entre as tomadas de dados, gerando primeiramente um valor de pressão ambiente, que é comparado ao valor anterior a cada medição, gerando um delta de medição, e um valor cumulativo de variação de pressão. Esse valor é comparado aos valores dos reatores a cada medição realizada. O valor corrigido da pressão, é então multiplicado pelo valor da variação de gás no sistema, encontrado na calibração dos sensores, gerando assim o valor final corrigido de geração de gás para aquele determinado período de tempo.

Como é gerado um dado a cada 4 segundos, e o experimento rodou por várias horas, optou-se por padronizar os dados que fossem inseridos na curva de geração de gás. Assim, foi feita a média de todas as tomadas de dados feitas a cada 10 minutos de experimento, resultando em um ponto plotado na curva de geração. As curvas foram geradas com os três sensores simultaneamente, e os erros das medições foram calculados conforme a equação (4.1) (RODRIGUES; IEMMA,2005).

$$\text{Erro padrão (ml)} = \frac{\text{Desvio Padrão Amostral}}{\sqrt{\text{número de amostras}}} \quad (4.1)$$

onde o desvio padrão e o número de amostras são calculados baseados nos números das médias de geração a cada 10 minutos, conforme evidenciado anteriormente no texto. Os dados finais de geração são comparados ainda com a fórmula de fermentação da glicose, assim, tem-se a equação (4.2)



onde a massa molar da glicose equivale a 180g, e a fermentação da glicose gera 2 mols de dióxido de carbono. Assim, com 1g de glicose, tem-se o equivalente a 0,0055 mols de glicose, que geram 0,0111 mols de dióxido de carbono. Sabendo-se que 1 mol equivale a 22,4L, tem-se a geração teórica estimada em 249 mL de dióxido de carbono.

Após a execução dos experimentos de calibração, fez-se a média das tomadas de dados separadas por sensores. Em posse dos dados experimentais das médias, pode-se aplicar os mesmos ao modelo de Gompertz. A parametrização do modelo para geração de gás, é disposta na equação (4.3):

$$Y = P * \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{Rm * e(1)}{P} (\delta - t) + 1 \right] \right\} \quad (4.3)$$

onde  $Y$  é a produção cumulativa de gás no tempo  $t$ ,  $P$  é o potencial máximo de metano (mL),  $Rm$  é a taxa de produção de gás por hora (mL/h), “ $e(1)$ ” é uma constante matemática (2,718) e  $\delta$  é dada pela fase lag, referente ao início da geração de gás no sistema, em horas (h) (SHAMURAD *et al.*, 2019).

Os valores encontrados foram usados para comparação nos experimentos realizados na calibração, a fim de entender se os resultados dos sensores estão corretos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 CALIBRAÇÃO

Os experimentos foram realizados em reatores de 1L, com a presença de 1g de glicose PA, 1 g de fermento biológico, e 200 mL de água, inseridos em um banho maria configurado a 34 °C, por 9 horas. Comparando-se o valor inserido de glicose no sistema, e sabendo-se que 1g de glicose gera 0,011 mol de dióxido de carbono, e que 1 mol de dióxido de carbono equivale a 22,4 L, espera-se que os valores dos experimentos sejam próximos de 249 mL de gás, ou menos.

Para a calibração dos sensores, injetou-se ar pela entrada lateral do equipo, com a utilização de uma seringa e um scalp. Os dados das calibrações dos sensores 1, 2 e 3 estão dispostos nas tabelas 1, 2 e 3, bem como as curvas finais de calibração, estão dispostas nas figuras 12, 13 e 14.

Tabela 1- Dados calibração sensor 01

(Continua)

CALIBRAÇÃO SENSOR 01						
Volume injetado acumulado (mL)	Pressão medida	Volume medido(mL)	Pressão medida	Volume medido(mL)	Pressão medida	Volume medido (mL)
0	99,65	848	97,37	-19,49	98,13	16,92
10	100,41	854,95	98,13	-11,2	98,89	25,24
20	101,17	861,42	98,89	-2,92	99,65	33,56
30	101,93	867,9	100,41	13,65	100,41	41,18
40	102,69	874	101,1	21,9	101,17	50,2
50	104,21	877,32	101,93	30,22	101,93	58,5
60	104,97	893,79	103,45	46,79	102,77	66,5
70	105,73	906,73	104,21	55,07	103,45	75,1
80	106,49	906,73	104,97	63,36	104,97	91,8
90	107,25	913,21	105,73	71,65	105,73	100,14
100	108,01	919,68	106,49	79,93	106,49	108,4
110	109,54	932,63	107,25	88,29	107,25	116,5
120	110,3	939,1	108,78	104,78	108,78	133,4

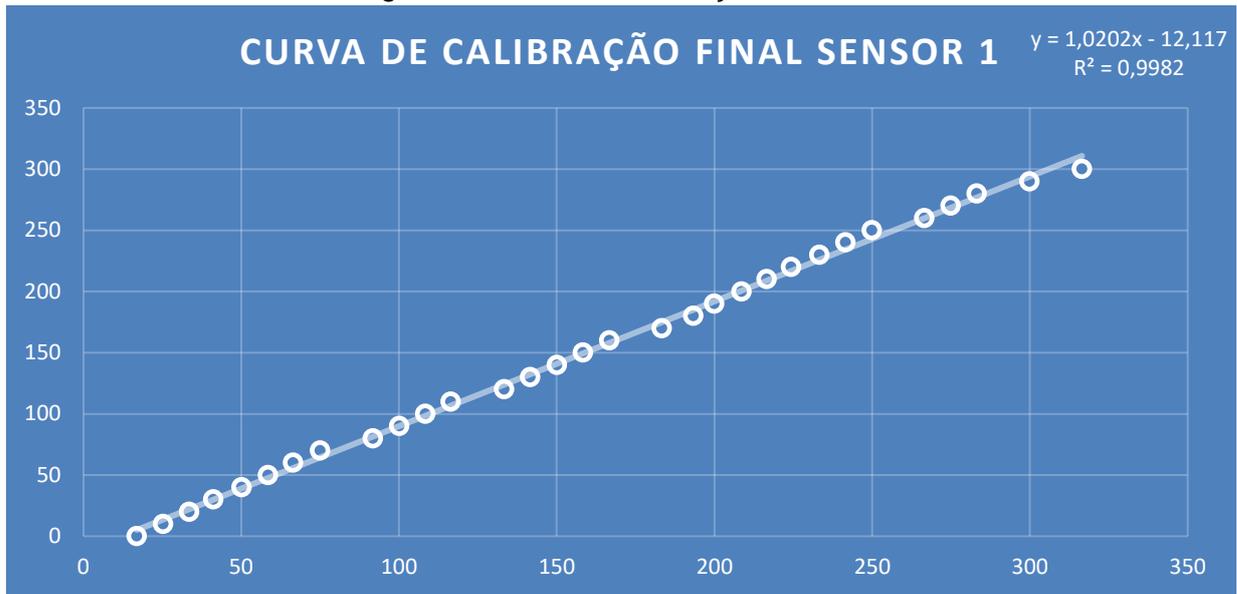
Tabela 1- Dados calibração sensor 01

(Conclusão)

CALIBRAÇÃO SENSOR 01						
Volume injetado acumulado (mL)	Pressão medida	Volume medido(mL)	Pressão medida	Volume medido(mL)	Pressão medida	Volume medido (mL)
140	111,82	952,05	110,3	121,35	110,3	150,07
150	112,58	958,52	111,06	129,64	111,06	158,39
160	113,34	967,99	111,82	137,21	111,82	166,7
170	114,86	977,94	112,58	146,49	113,34	183,36
180	115,62	984,41	114,1	162,78	114,1	193,3
190	116,38	990,88	114,86	171,06	114,86	200
200	117,14	997,36	115,62	179,35	115,62	208,6
210	117,9	1003,83	116,38	187,63	116,38	216,6
220	118,76	1010,3	117,14	195,6	117,14	224,3
230	120,18	1023,25	118,66	212,49	117,9	233,29
240	120,94	1029,72	119,42	220,77	118,66	241,55
250	121,7	1036,19	120,18	229,05	119,42	249,95
260	123,22	1049,14	120,94	237,34	120,94	266,58
270	123,98	1055,61	121,7	245,62	121,7	274,9
280	125,5	1068,56	123,22	262,19	122,46	283,22
290	126,26	1077,03	1323,98	270,48	123,98	299,87
300	127	1081,5	125,5	287,05	125,5	316,5

Fonte: Do autor

Figura 12- Curva de calibração sensor 01



Fonte: Do autor

Tabela 2- Dados calibração sensor 02

(Continua)

## CALIBRAÇÃO SENSOR 02

Volume injetado acumulado (mL)	Pressão medida	Volume medido(mL)	Pressão medida	Volume medido(mL)	Pressão medida	Volume medido (mL)
0	99,65	84,85	98,89	-5,58	98,89	1,43
10	100,41	85,5	99,65	2,91	99,65	9,99
20	101,17	86,1	100,41	11,4	100,41	18,5
30	101,93	86,7	101,17	19,8	101,17	27,1
40	102,69	87,4	102,69	36,8	102,69	44,2
50	104,21	88,7	103,45	45,3	103,45	52,8
60	104,97	89,3	104,21	53,8	104,21	61,4
70	105,73	90	104,97	62,3	104,97	69,5
80	106,49	90,6	105,73	70,8	105,73	78,5
90	107,25	91,3	106,49	79,3	107,25	95,6
100	108,78	92,6	108,1	96,2	108,1	104,23
110	109,54	93,2	108,78	104,7	108,78	112,5

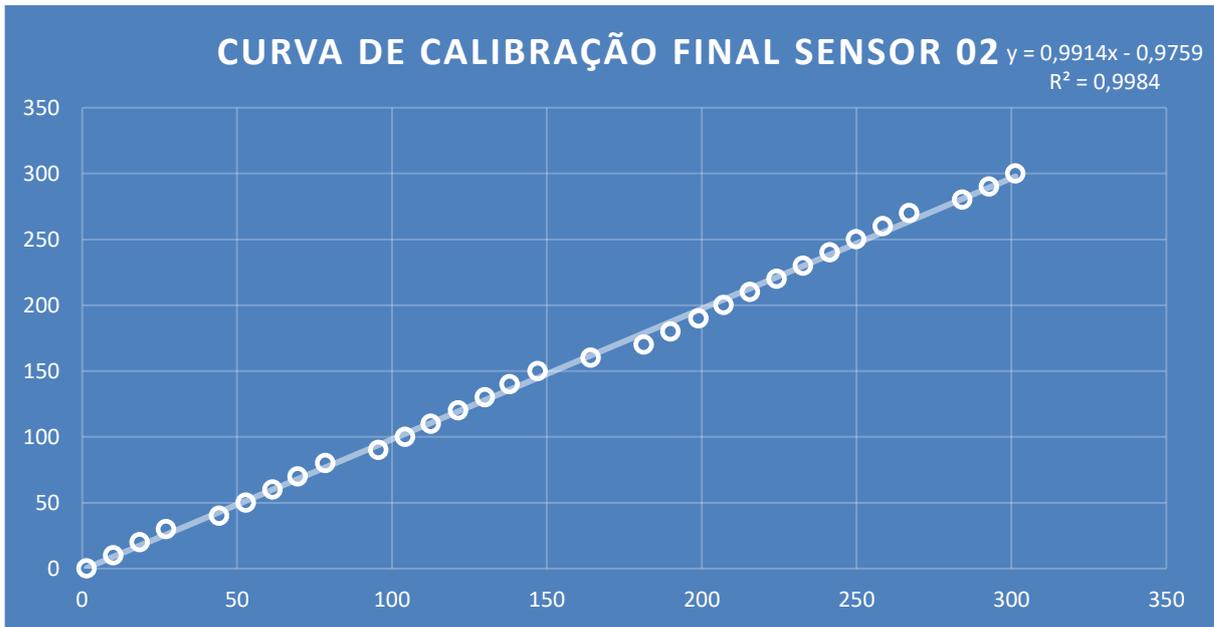
Tabela 2- Dados calibração sensor 02

(Conclusão)

CALIBRAÇÃO SENSOR 02						
Volume injetado acumulado (mL)	Pressão medida	Volume medido(mL)	Pressão medida	Volume medido(mL)	Pressão medida	Volume medido (mL)
130	111,06	94,5	110,3	121,74	110,3	129,93
140	111,82	95,2	111,03	130,23	111,06	138
150	112,58	95,8	111,82	138	111,82	147,06
160	114,1	97,1	112,58	147,2	113,34	164,2
170	114,76	97,7	114,1	164,18	114,86	181,33
180	115,62	98,7	114,86	172,67	115,62	189,9
190	116,38	99	115,62	181,16	116,38	198,9
200	117,14	99,7	116,38	189,64	117,14	207,03
210	117,9	100	117,14	198,13	117,9	215,6
220	119,42	101	117,9	206,62	118,6	224,14
230	120,18	102,2	119,42	223,6	119,42	232,72
240	121,7	103,2	120,18	232,08	120,18	241,3
250	121,7	103,2	120,94	240,57	120,94	249,87
260	122,43	104,27	121,7	249,06	121,7	258,44
270	123,22	104,91	122,46	257	122,4	267
280	124,74	106,21	123,98	264,52	123,98	284,14
290	125,5	106,86	124,74	283,01	124,74	292,7
300	127,02	108,15	126,26	299,9	125,5	301,27

Fonte: Do autor

Figura 13- Curva de calibração sensor 02



Fonte: Do autor

Tabela 3- Dados de calibração sensor 03

(Continua)

## CALIBRAÇÃO SENSOR 03

Volume injetado acumulado (mL)	Pressão medida	Volume medido(mL)	Pressão medida	Volume medido(mL)	Pressão medida	Volume medido (mL)
0	107,25	91,3	101,17	-76,16	99,65	-13,53
10	108,01	91,9	101,93	-66,84	100,41	-4,15
20	108,78	92,6	102,69	-57	101,17	5,24
30	109,54	93,2	103,45	-48,5	101,93	14,6
40	110,3	93,9	104,21	-39,2	102,69	24
50	111,06	94,5	104,97	-30,07	104,21	42,79
60	112,58	95,8	105,73	-20,85	104,97	52,17
70	113,34	96,5	106,49	-11,63	105,73	61,5
80	114,1	97,1	107,25	-2,44	106,49	70,95
90	114,86	98,4	108,01	6,81	107,25	80,33
100	116,38	99	108,78	16,03	108,01	89,7
110	117,14	99,7	109,54	25,25	109,54	108,49

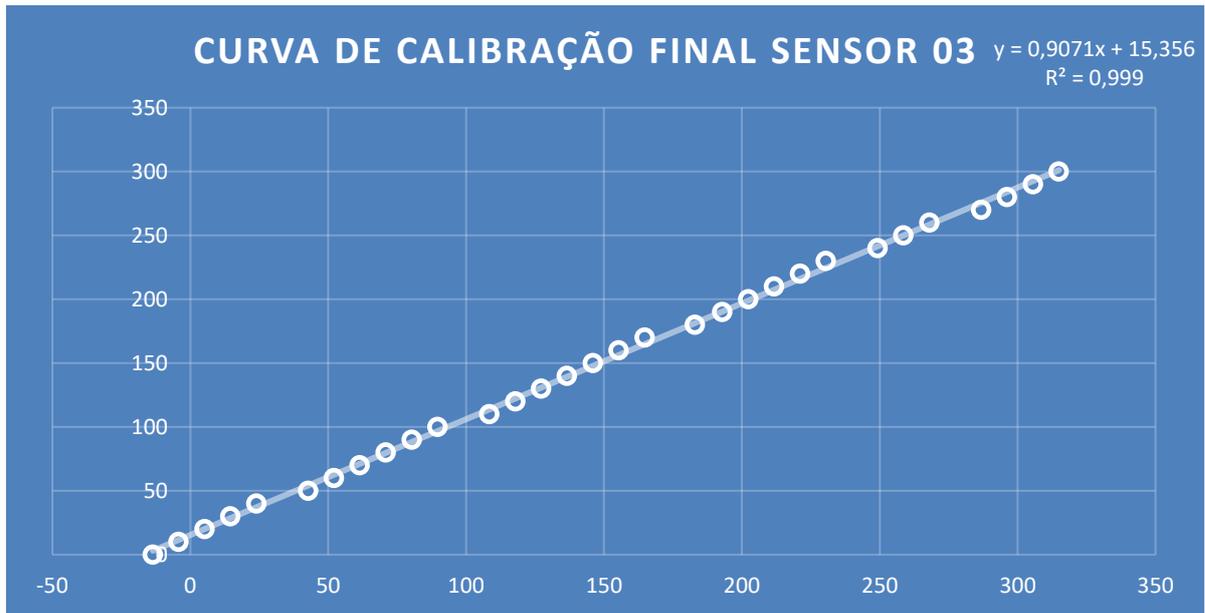
Tabela 3- Dados de calibração sensor 03

(Conclusão)

CALIBRAÇÃO SENSOR 03						
Volume injetado acumulado (mL)	Pressão medida	Volume medido(mL)	Pressão medida	Volume medido(mL)	Pressão medida	Volume medido (mL)
120	117,9	100,3	110,3	34,47	110,3	117,88
130	118,66	101,32	111,06	43,6	111,06	127,27
140	119,42	101,92	111,82	52,9	111,82	136,65
150	120,18	102,32	112,58	62,1	112,58	146,04
160	120,94	102,92	113,34	71,34	113,34	155,43
170	121,7	103,32	114,1	80,56	114,1	164,81
180	122,46	104,32	115,62	89,8	115,62	183
190	123,22	104,92	115,62	99	116,38	192,97
200	123,98	105,32	116,38	108,22	117,14	202,36
210	124,74	106,32	117,14	117,43	117,9	211,75
220	125,5	106,86	118,66	135,85	118,66	221,13
230	126,26	107,05	120,18	145,1	119,42	230,52
240	127,02	108,15	120,94	154,3	120,94	249,29
250	127,78	108,8	120,94	163,53	121,8	258,66
260	128,54	109,45	121,7	172,75	122,46	268,06
270	129,3	110,09	122,46	181,97	123,98	286,84
280	130,06	110,74	123,98	200,4	124,74	296,22
290	131,58	112,03	124,74	209,62	126,26	305,6
300	132,34	112,68	126,26	228,06	127,12	315

Fonte: Do autor

Figura 14- Curva de calibração sensor 03



Fonte: Do autor

### 5.1.1 Validação de calibração 01

Após a calibração, os experimentos de bancada puderam ser iniciados. Foram realizados experimentos com três sensores calibrados rodando simultaneamente. Os dados da validação de calibração 01 seguem dispostos na tabela 4 e as curvas geradas, na figura 15, os erros foram calculados segundo preconiza a metodologia de Rodrigues e lemma (2005).

Tabela 4- Dados validação de calibração 01

(Continua)

VALIDAÇÃO DE CALIBRAÇÃO 01			
Tempo (hora)	Sensor 01 (mL)	Sensor 02 (mL)	Sensor03 (mL)
00:00:00	0	0	0
00:10:00	6,4	8,8	6,7
00:20:00	19,6	15,8	14,7
00:30:00	27,9	20,3	23,5
00:40:00	33,7	25,6	31,5
00:50:00	39,2	29,7	39,6
01:00:00	46,4	35,4	48,0
01:10:00	51,9	39,6	54,9
01:20:00	57,8	44,6	63,6
01:30:00	63,7	48,7	71,1
01:40:00	71,1	54,9	78,6

Tabela 4- Dados validação de calibração 01

(Continua)

VALIDAÇÃO DE CALIBRAÇÃO 01			
Tempo (hora)	Sensor 01 (mL)	Sensor 02 (mL)	Sensor03 (mL)
01:50:00	76,8	59,2	85,2
02:00:00	86,8	67,6	95,1
02:10:00	92,6	71,5	102,2
02:20:00	98,2	76,4	108,7
02:30:00	104,2	81,2	116,0
02:40:00	109,8	86,1	122,7
02:50:00	115,1	91,2	129,5
03:00:00	120,7	95,6	135,8
03:10:00	125,5	101,0	142,1
03:20:00	131,2	104,9	148,4
03:30:00	136,1	109,6	154,6
03:40:00	139,7	114,4	158,6
03:50:00	144,4	119,0	164,9
04:00:00	148,9	121,9	169,3
04:10:00	153,8	127,2	175,8
04:20:00	157,8	130,5	180,1
04:30:00	160,7	133,0	183,2
04:40:00	165,5	138,3	187,4
04:50:00	168,2	141,4	192,3
05:00:00	172,2	145,0	195,2
05:10:00	175,3	148,8	200,5
05:20:00	177,6	151,7	203,5
05:30:00	182,0	155,5	207,2
05:40:00	184,3	158,0	210,9
05:50:00	186,4	160,4	212,3
06:00:00	189,8	164,0	214,7
06:10:00	192,7	166,5	219,0
06:20:00	194,0	167,7	220,0
06:30:00	195,3	170,6	221,1
06:40:00	197,9	173,0	224,0
06:50:00	200,8	175,8	226,7
07:00:00	202,4	176,9	228,9
07:10:00	203,1	178,4	229,5
07:20:00	203,0	181,5	230,1
07:30:00	204,7	184,0	231,5
07:40:00	205,2	183,7	232,4
07:50:00	207,5	184,9	234,5
08:00:00	208,0	185,3	235,7
08:10:00	208,6	186,5	236,3
08:20:00	208,4	186,4	236,1
08:30:00	210,1	189,7	236,5

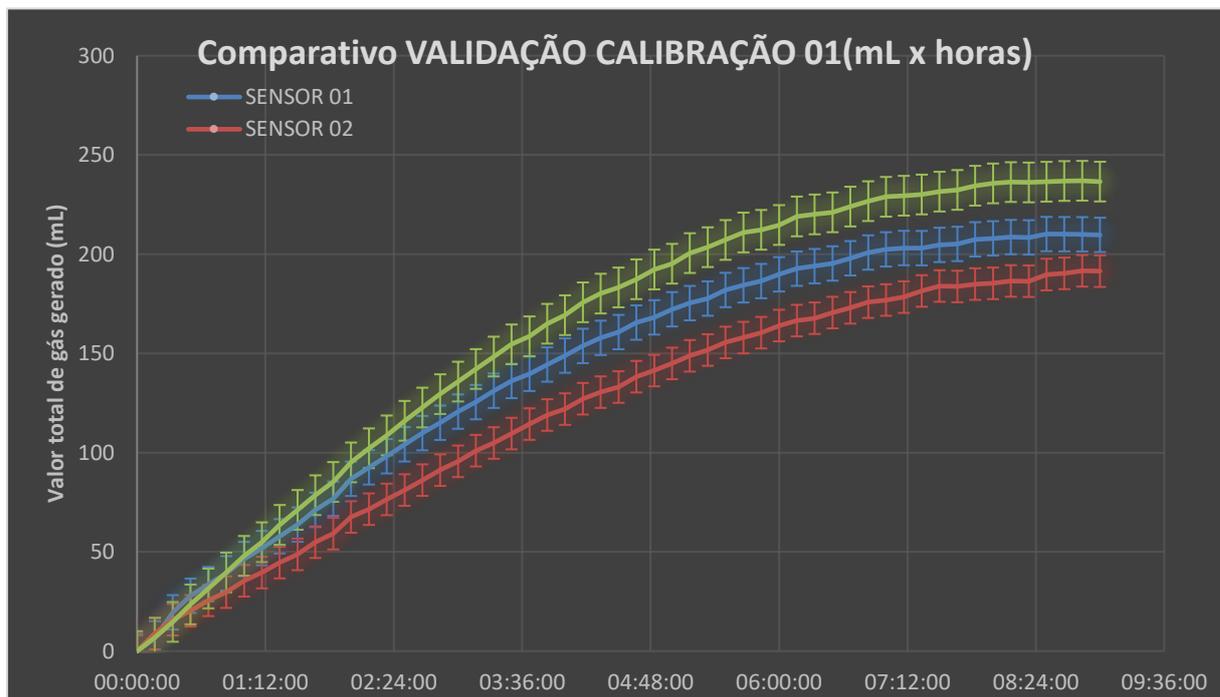
Tabela 4- Dados validação de calibração 01

(Conclusão)

VALIDAÇÃO DE CALIBRAÇÃO 01			
Tempo (hora)	Sensor 01 (mL)	Sensor 02 (mL)	Sensor03 (mL)
08:40:00	210,1	190,3	236,9
08:50:00	210,0	191,6	237,0
09:00:00	209,7	191,4	236,6
Desvio Padrão	64,22	58,91	74,21
Erro Padrão	$\pm 8,66$	$\pm 7,94''$	$\pm 10,00$

Fonte: Do autor

Figura 15- Curvas validação calibração 01



Fonte: Do autor

Ao analisar as curvas do experimento, percebe-se que as três apresentam comportamento semelhante, o que pensando no estabelecimento de um método de quantificação de gás, é significativo. Comparando os valores finais, com o valor máximo teórico (249 mL), temos que todos os dados, com seus respectivos erros, estão dentro do intervalo esperado para geração de gás. Entretanto, os valores finais entre os próprios sensores, estão discretamente divergentes, quando aplicados os valores dos erros calculados para cada um deles. Essa divergência pode ser relacionada a diferentes hipóteses, como problemas no posicionamento do reator no banho maria, ou ainda, variações na quantidade total de fermento ou glicose inseridas nos reatores.

### 5.1.2 Validação de calibração 02

Para a realização da validação de calibração 02, replicou-se todas condições da validação de calibração 01, recarregando o mesmo código no Arduino, com a mesma calibração anterior. Tomou-se o cuidado de reforçar a fixação dos sensores na protoboard, visto que as ligações dos sensores são extremamente frágeis. Os dados seguem dispostos na tabela 5, e a curva gerada na figura 16.

Tabela 5- Dados validação de calibração 02

(Continua)

VALIDAÇÃO DE CALIBRAÇÃO 02			
Tempo (hora)	Sensor 01 (mL)	Sensor 02 (mL)	Sensor03 (mL)
00:00:00	0	0	0
00:10:00	3,5	0,9	15,9
00:20:00	13,0	10,1	25,7
00:30:00	20,6	17,1	32,6
00:40:00	23,7	22,7	38,3
00:50:00	27,4	27,5	42,1
01:00:00	32,3	31,8	47,4
01:10:00	35,9	35,8	50,6
01:20:00	39,0	38,5	56,6
01:30:00	43,4	43,0	61,0
01:40:00	49,0	48,9	68,1
01:50:00	52,5	53,2	73,3
02:00:00	57,7	58,4	79,9
02:10:00	61,5	62,7	83,2
02:20:00	66,0	67,4	89,5
02:30:00	69,0	71,1	93,9
02:40:00	75,0	76,7	99,6
02:50:00	79,9	81,2	105,9
03:00:00	83,7	85,4	110,6
03:10:00	88,0	90,2	114,5
03:20:00	94,4	97,1	120,5
03:30:00	97,9	101,3	125,7
03:40:00	103,3	106,0	131,9
03:50:00	109,1	111,2	138,6
04:00:00	114,5	117,0	145,5
04:10:00	119,6	122,0	151,1
04:20:00	125,2	127,3	156,2
04:30:00	130,9	132,9	162,8
04:40:00	134,8	137,3	169,6
04:50:00	140,6	142,8	174,0

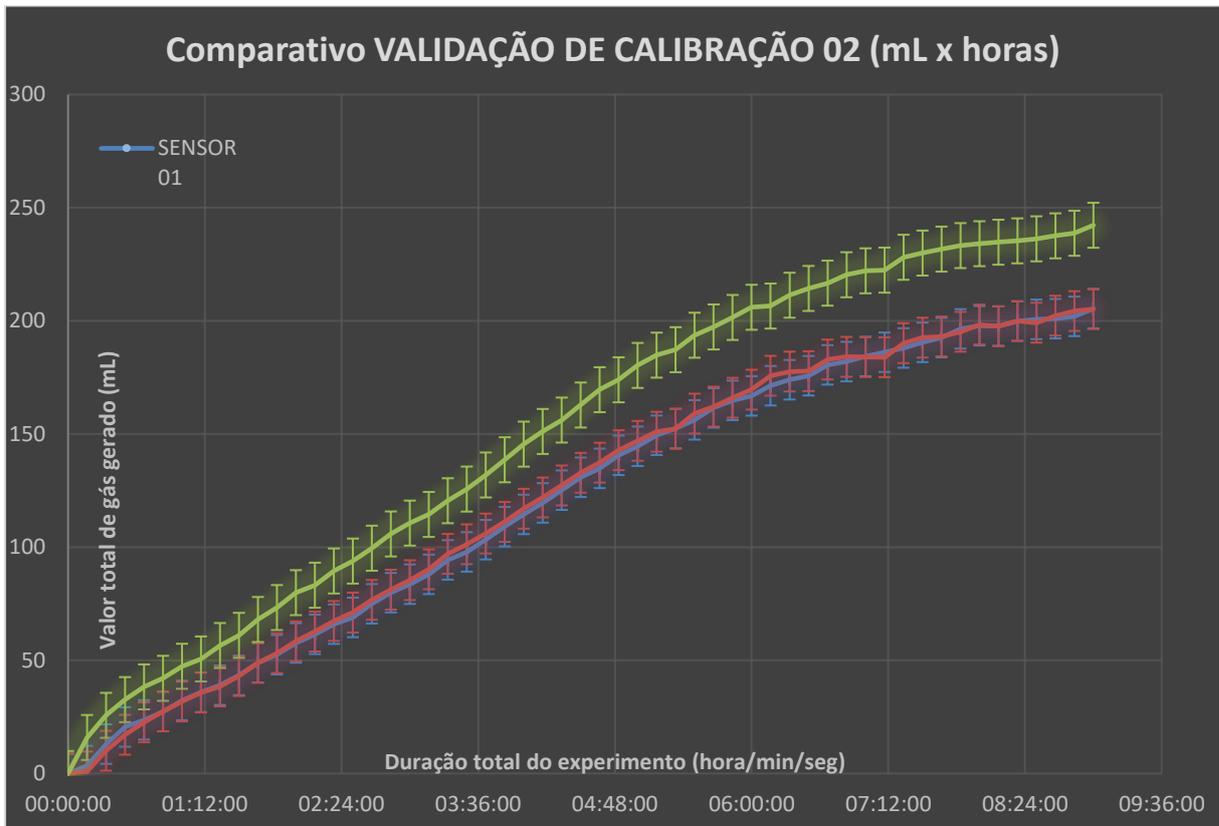
Tabela 5- Dados validação de calibração 02

(Conclusão)

VALIDAÇÃO DE CALIBRAÇÃO 02			
Tempo (hora)	Sensor 01 (mL)	Sensor 02 (mL)	Sensor03 (mL)
05:00:00	144,6	147,0	180,3
05:10:00	149,5	151,0	184,9
05:20:00	152,4	152,4	187,3
05:30:00	156,3	159,0	193,7
05:40:00	161,6	162,1	197,3
05:50:00	164,9	166,0	201,5
06:00:00	166,9	169,6	206,0
06:10:00	171,3	175,8	206,6
06:20:00	174,0	177,6	211,3
06:30:00	175,8	177,8	214,3
06:40:00	180,6	182,9	216,7
06:50:00	182,0	184,1	220,4
07:00:00	184,3	184,0	222,1
07:10:00	186,1	183,9	222,4
07:20:00	188,0	190,2	228,1
07:30:00	190,5	192,6	230,0
07:40:00	192,6	193,1	231,7
07:50:00	196,5	195,2	233,3
08:00:00	197,9	198,4	234,1
08:10:00	197,8	197,6	234,8
08:20:00	199,9	199,9	235,4
08:30:00	200,7	199,2	236,3
08:40:00	201,0	202,3	237,6
08:50:00	202,0	204,3	238,7
09:00:00	205,4	205,2	242,3
Desvio Padrão	64,67	65,24	73,737
Erro Padrão	± 8,72	±8,79	±9,94

Fonte: Do autor

Figura 16- Curvas validação de calibração 02



Fonte: Do autor

Analisando as curvas da validação de calibração 02, temos um comportamento importante no que se refere a padronização de dados, entre o sensor 1 e sensor 2, com evolução entre o experimento 01 e 02, apresentando medições semelhantes com a aplicação dos erros. Entretanto, o sensor 03 teve comportamento equivalente a validação de calibração 01. Dessa forma, pode inferir sobre hipóteses para a ocorrência dessa situação, dentre elas, a ocorrência de erro experimental no sistema, como problemas no acoplamento do sensor 3 e na sua calibração, ou ainda referente a posição do reator 3 no banho maria. Isso ocorre pois o banho maria utilizado não possui agitação para homogeneização da água. Assim, como o reator 3 estava poucos centímetros mais perto da resistência, há a hipótese da temperatura dentro dele estar ligeiramente mais alta que nos reatores 1 e 2, acelerando a fermentação da glicose. No que se refere ao valor máximo teórico, os valores estão dentro do limite para fermentação total de 1g de glicose.

### 5.1.3 Validação de calibração 03

Para a realização da validação de calibração 03, replicou-se as condições das validações anteriores. Entretanto, dessa vez mudou-se a disposição dos reatores no

banho maria, de forma a diminuir o gap de temperatura. Os dados seguem dispostos na tabela 6, e a curva gerada na figura 17.

Tabela 6- Dados validação de calibração 03

(Continua)

VALIDAÇÃO DE CALIBRAÇÃO 03			
Tempo (hora)	Sensor 01 (mL)	Sensor 02 (mL)	Sensor03 (mL)
00:00:00	0	0	0
00:10:00	7,3	4,2	5,3
00:20:00	17,5	13,0	14,8
00:30:00	24,0	20,1	23,0
00:40:00	28,9	26,9	28,6
00:50:00	32,9	30,3	31,1
01:00:00	36,4	36,3	36,1
01:10:00	41,8	42,0	41,3
01:20:00	46,7	47,6	47,3
01:30:00	51,2	53,2	52,7
01:40:00	55,8	61,5	57,7
01:50:00	60,6	66,2	63,0
02:00:00	62,3	69,6	65,6
02:10:00	67,7	74,6	70,1
02:20:00	70,9	80,2	74,4
02:30:00	74,6	85,2	78,0
02:40:00	78,4	89,4	81,2
02:50:00	82,6	93,8	83,8
03:00:00	84,7	97,8	87,9
03:10:00	90,3	103,2	91,7
03:20:00	93,8	108,4	97,2
03:30:00	99,3	113,9	102,0
03:40:00	103,0	119,1	106,3
03:50:00	109,0	124,8	113,3
04:00:00	112,3	127,3	115,7
04:10:00	114,0	131,0	119,0
04:20:00	119,1	134,9	123,2
04:30:00	121,8	140,2	127,9
04:40:00	126,7	145,3	130,9
04:50:00	130,5	149,4	135,3
05:00:00	133,7	153,0	139,4
05:10:00	136,1	153,8	142,5
05:20:00	139,2	154,0	144,4
05:30:00	141,6	156,7	147,4
05:40:00	143,6	159,6	152,4
05:50:00	147,4	163,1	154,1

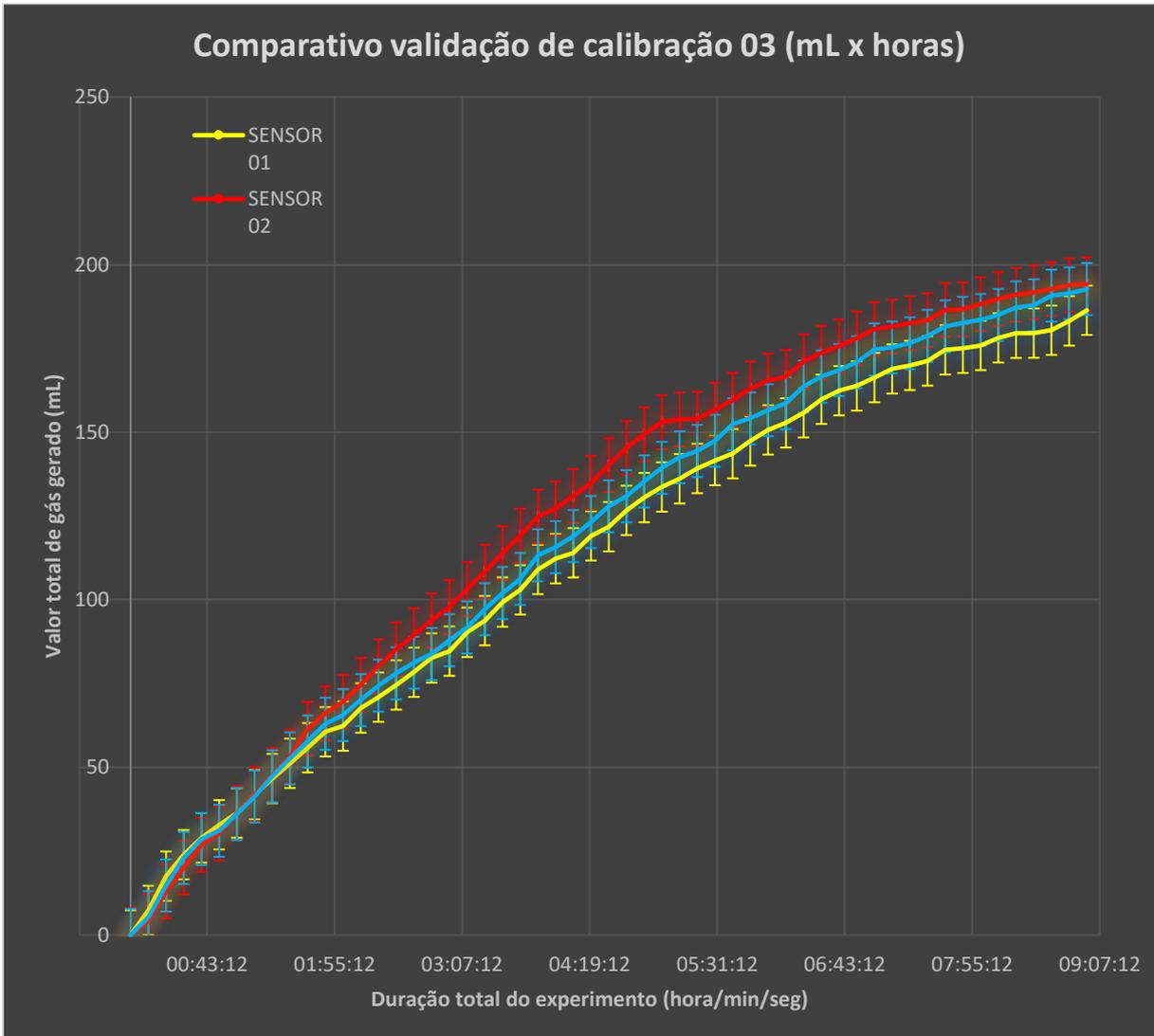
Tabela 6- Dados validação de calibração 03

(Conclusão)

VALIDAÇÃO DE CALIBRAÇÃO 03			
Tempo (hora)	Sensor 01 (mL)	Sensor 02 (mL)	Sensor03 (mL)
06:00:00	150,7	165,4	156,5
06:10:00	152,8	166,5	158,7
06:20:00	155,8	171,2	163,6
06:30:00	159,8	173,7	166,6
06:40:00	162,4	175,7	168,5
06:50:00	163,8	178,0	170,9
07:00:00	166,3	180,8	174,7
07:10:00	168,9	181,5	175,3
07:20:00	169,9	182,6	176,5
07:30:00	171,3	183,4	178,8
07:40:00	174,6	186,5	181,6
07:50:00	175,0	186,7	182,6
08:00:00	175,9	188,2	183,5
08:10:00	178,2	189,8	185,0
08:20:00	179,5	191,0	187,2
08:30:00	179,6	191,7	187,9
08:40:00	180,4	192,7	190,8
08:50:00	183,2	193,9	191,4
09:00:00	186,4	194,2	192,7
Desvio Padrão	54,6	59,5	57,6
Erro Padrão	± 7,36	±8,02	±7,76

Fonte: Do autor

Figura 17- Curvas validação de calibração 03



Fonte: Do autor

Observa-se que o comportamento das curvas na validação de calibração 03, foi o mais coeso até então. Houve simetria entre as tomadas de dados em todo o experimento, com os valores e seus respectivos erros, se interceptando entre as curvas dos diferentes sensores. Quando comparado ao valor máximo teórico (249 mL), os valores ficaram novamente ligeiramente abaixo do limite, o que indica que ainda havia glicose a ser fermentada no sistema quando se interrompeu o experimento.

#### 5.1.4 Validação de calibração 04

Para o experimento 04, repetiu-se as condições dos anteriores, entretanto, o banho maria anteriormente utilizado estragou, assim, a fim de não parar os experimentos, foi usado um banho com regulagem manual, com ajuste de temperatura

feito de 30 em 30 minutos junto a um termômetro. Os dados estão dispostos na tabela 7 e a curva gerada na figura 18.

Tabela 7- Dados validação de calibração 04

(Continua)

VALIDAÇÃO DE CALIBRAÇÃO 04			
Tempo (hora)	Sensor 01 (mL)	Sensor 02 (mL)	Sensor03 (mL)
00:00:00	0	0	0
00:10:00	7,3	8,1	2,5
00:20:00	15,2	15,0	8,3
00:30:00	19,0	18,4	11,9
00:40:00	21,3	20,4	13,7
00:50:00	34,2	34,8	28,7
01:00:00	38,1	39,1	34,3
01:10:00	41,0	42,2	37,6
01:20:00	47,1	48,1	45,1
01:30:00	63,7	65,5	63,9
01:40:00	63,6	66,4	66,0
01:50:00	65,9	68,7	68,9
02:00:00	74,9	79,6	80,6
02:10:00	77,4	81,5	83,3
02:20:00	75,3	79,1	81,6
02:30:00	76,6	80,6	83,5
02:40:00	81,9	86,7	91,3
02:50:00	84,0	89,3	93,7
03:00:00	83,4	86,7	91,6
03:10:00	82,3	86,7	91,9
03:20:00	92,5	96,4	103,7
03:30:00	104,3	109,9	117,0
03:40:00	107,6	112,0	119,5
03:50:00	109,6	115,8	122,8
04:00:00	112,9	119,9	128,7
04:10:00	113,1	118,5	126,7
04:20:00	109,2	115,1	125,3
04:30:00	106,7	111,7	120,7
04:40:00	110,6	116,2	127,4
04:50:00	113,4	119,7	131,0
05:00:00	111,7	118,9	128,2
05:10:00	111,7	116,5	128,2
05:20:00	115,1	119,3	132,5
05:30:00	122,8	127,8	138,7
05:40:00	120,5	125,9	137,0
05:50:00	118,6	123,8	135,2

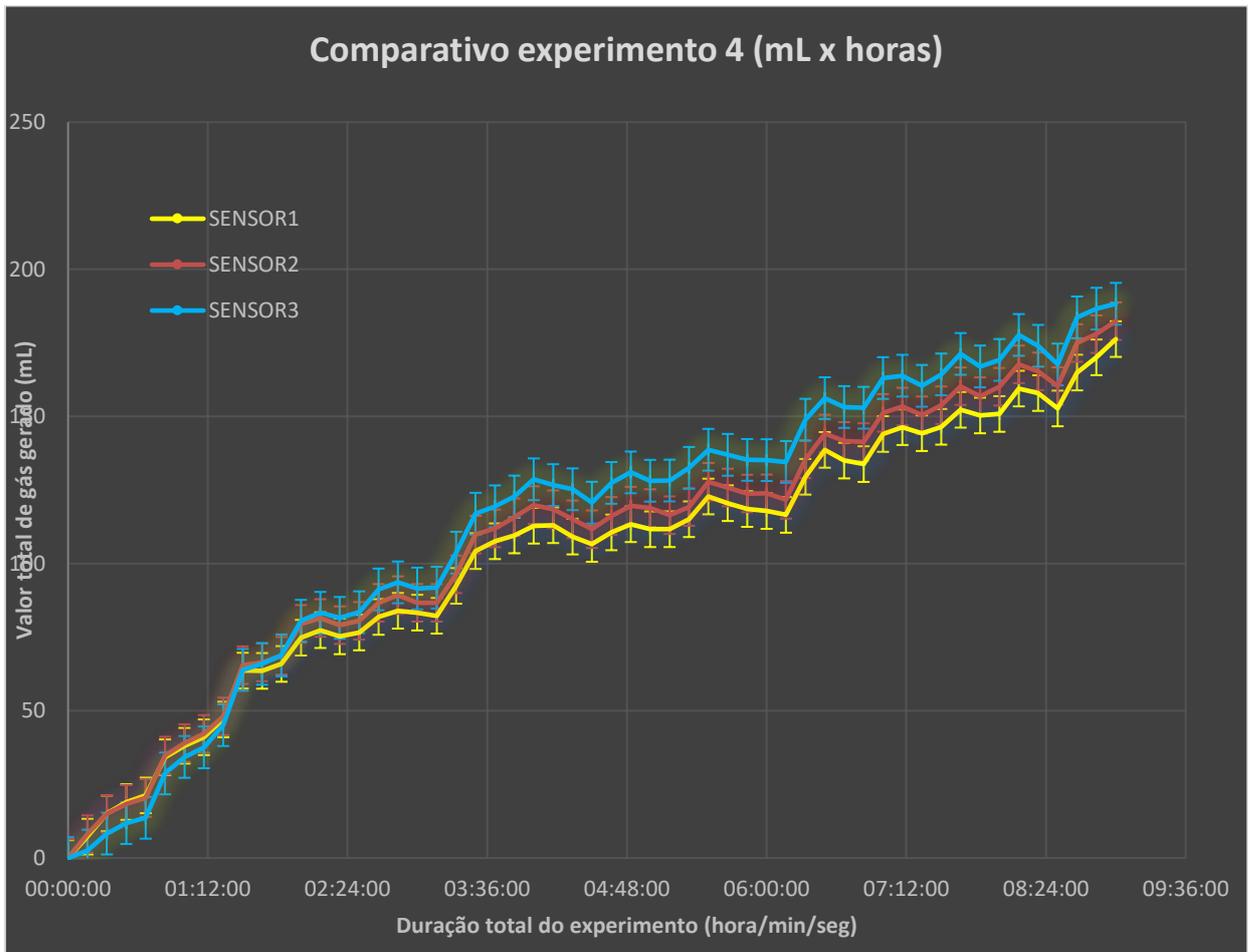
Tabela 7- Dados validação de calibração 04

(Conclusão)

VALIDAÇÃO DE CALIBRAÇÃO 04			
Tempo (hora)	Sensor 01 (mL)	Sensor 02 (mL)	Sensor03 (mL)
06:00:00	117,9	123,9	135,2
06:10:00	116,6	121,7	134,6
06:20:00	129,5	135,4	148,9
06:30:00	138,7	144,2	156,2
06:40:00	135,0	141,7	153,2
06:50:00	133,8	141,3	153,0
07:00:00	144,0	151,2	163,1
07:10:00	146,4	153,4	163,9
07:20:00	144,3	150,4	160,4
07:30:00	146,5	153,8	164,3
07:40:00	152,3	160,3	171,2
07:50:00	150,3	156,9	167,0
08:00:00	150,9	160,1	169,2
08:10:00	159,5	167,7	177,7
08:20:00	158,0	165,3	174,0
08:30:00	152,7	160,3	167,7
08:40:00	164,9	175,0	183,7
08:50:00	170,1	178,0	186,6
09:00:00	176,3	182,4	188,3
Desvio Padrão	44,89	47,30	52,61
Erro Padrão	±6,05	±6,38	±7,09

Fonte: Do autor

Figura 18- Curvas experimento 04



Fonte: Do autor

Percebe-se pela figura 18, que a troca do banho maria, afetou diretamente o perfil da fermentação na validação de calibração 04. Quando comparado aos outros, o presente experimento mostrou curvas com menos fluidez. Isso se dá por conta da diferença de temperatura, visto que, sua correção não foi automatizada, mas sim realizada de 30 em 30 minutos, quando acionava-se a resistência junto ao termostato, o que gerou várias “quebras” na geração de gás. Analisando a figura, do ponto de vista de calibração e uso dos sensores, o resultado foi positivo. Visto que, os três sensores apresentaram o mesmo perfil em todas as tomadas de dados, mesmo quando houve variações bruscas de temperatura.

### 5.1.5 Análise entre curvas

Analisando-se as validações de calibração de 01 a 04, pode-se separar os dados por sensores. Assim, fez-se a média das gerações de gás para cada sensor, os erros foram recalculados, e fez-se uma plotagem de todas as médias juntas. Os

dados das médias estão dispostos na tabela 8 e as curvas estão dispostas na figura 19. Ressalta-se que, para essa análise, optou-se por retirar os dados do experimento 04, por conta do problema no banho maria.

Tabela 8- Média de dados das 3 primeiras validações

(Continua)

MÉDIA DAS 3 PRIMEIRAS VALIDAÇÕES			
Tempo (hora)	Sensor 01 (mL)	Sensor 02 (mL)	Sensor03 (mL)
00:00:00	0	0	0
00:10:00	5,75	4,65	9,31
00:20:00	16,70	12,95	18,39
00:30:00	24,13	19,18	26,37
00:40:00	28,79	25,03	32,81
00:50:00	33,13	29,15	37,58
01:00:00	38,33	34,52	43,81
01:10:00	43,21	39,09	48,92
01:20:00	47,83	43,57	55,83
01:30:00	52,77	48,33	61,62
01:40:00	58,65	55,08	68,11
01:50:00	63,30	59,50	73,86
02:00:00	68,94	65,18	80,20
02:10:00	73,93	69,62	85,16
02:20:00	78,37	74,68	90,86
02:30:00	82,58	79,16	95,98
02:40:00	87,73	84,10	101,17
02:50:00	92,53	88,76	106,38
03:00:00	96,33	92,96	111,45
03:10:00	101,26	98,15	116,12
03:20:00	106,44	103,44	122,06
03:30:00	111,11	108,27	127,42
03:40:00	115,34	113,19	132,27
03:50:00	120,84	118,32	138,95
04:00:00	125,22	122,07	143,49
04:10:00	129,12	126,70	148,63
04:20:00	134,04	130,88	153,16
04:30:00	137,82	135,38	157,97
04:40:00	142,35	140,31	162,61
04:50:00	146,42	144,53	167,19
05:00:00	150,16	148,31	171,63
05:10:00	153,63	151,19	175,97
05:20:00	156,40	152,69	178,40
05:30:00	159,92	157,10	182,76

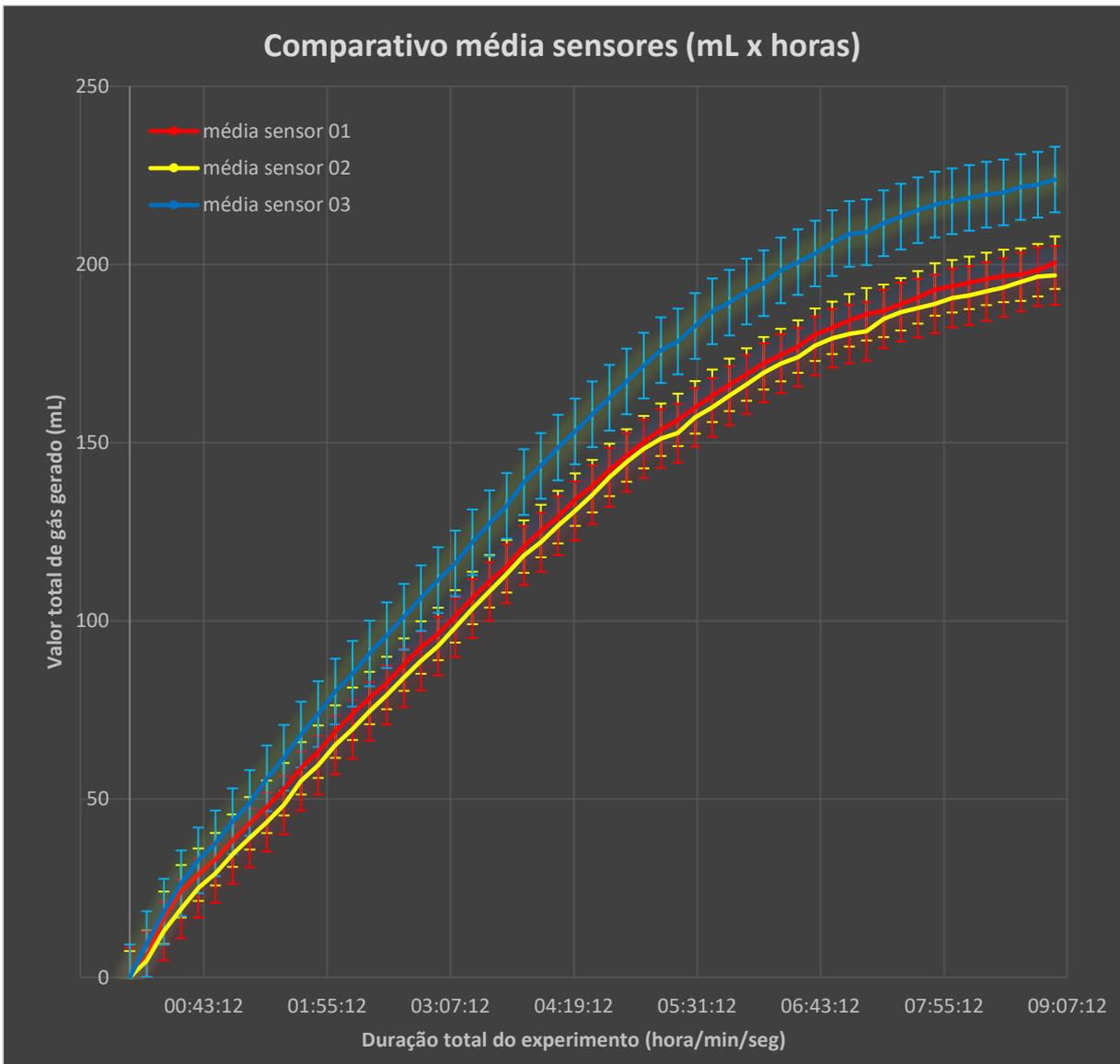
Tabela 8- Média de dados das 3 primeiras validações

(Conclusão)

MÉDIA DAS 3 PRIMEIRAS VALIDAÇÕES			
Tempo (hora)	Sensor 01 (mL)	Sensor 02 (mL)	Sensor03 (mL)
05:40:00	163,16	159,90	186,87
05:50:00	166,24	163,19	189,31
06:00:00	169,14	166,34	192,42
06:10:00	172,28	169,60	194,74
06:20:00	174,59	172,17	198,34
06:30:00	176,97	174,03	200,68
06:40:00	180,29	177,18	203,07
06:50:00	182,22	179,31	206,00
07:00:00	184,33	180,56	208,58
07:10:00	186,04	181,28	209,07
07:20:00	186,99	184,73	211,58
07:30:00	188,83	186,66	213,42
07:40:00	190,78	187,76	215,22
07:50:00	192,99	188,94	216,80
08:00:00	193,90	190,61	217,75
08:10:00	194,84	191,30	218,69
08:20:00	195,96	192,45	219,59
08:30:00	196,80	193,56	220,21
08:40:00	197,15	195,12	221,74
08:50:00	198,41	196,61	222,38
09:00:00	200,52	196,94	223,84
Desvio Padrão	61,01	61,16	68,34
Erro Padrão	±8,23	±8,25	±9,21

Fonte: Do autor

Figura 19- Curva média dos sensores



Fonte: Do autor

A figura 19 evidencia que as curvas médias apresentaram comportamento semelhante. A curva do sensor 03, apresentou ligeira discrepância, por conta de erros experimentais, conforme supracitado no texto, apresentando valor final de  $223,84 \pm 9,21$  mL. Entretanto, as curvas dos sensores 01 e 02, apresentaram semelhança significativa, com as barras de erros se interceptando ao longo de toda a curva dos experimentos, o sensor 01 apresentou valor final de  $200,52 \pm 8,23$  mL e o sensor 02 apresentou valor final de  $196,94 \pm 8,25$  mL.

Quando os valores são comparados ao valor teórico da fermentação do substrato, tem-se que todos estão abaixo do limite da fermentação total teórica da

glicose (249mL), estando os valores finais aproximadamente 80% do valor total da fermentação, o que vai de encontro ao Angelidaki e Sanders (2004) escreveram, evidenciando que o resultado sempre ficará um pouco abaixo do potencial teórico, visto que uma fração do substrato é utilizada para sintetizar a biomassa bacteriana.

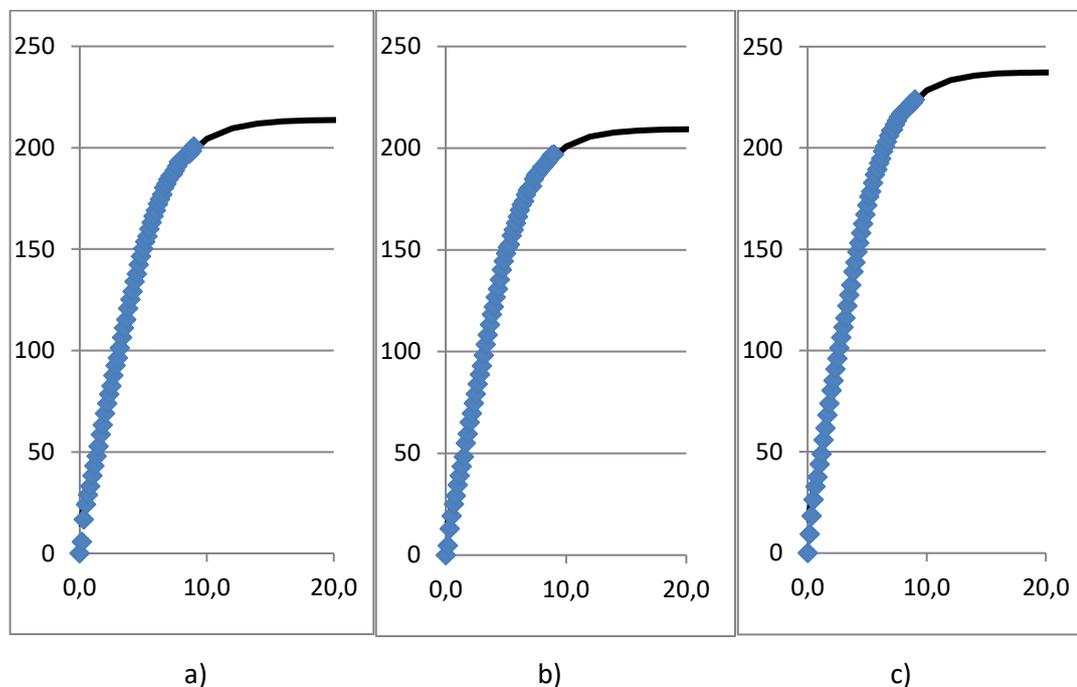
Em posse dos dados experimentais das médias dos sensores, também pode-se aplicar os mesmos ao modelo de Gompertz. Os resultados obtidos estão dispostos na tabela 9, e as curvas de cada uma das médias dos sensores aplicadas ao modelo de Gompertz, estão dispostas na figura 20.

Tabela 9- Modelo de Gompertz aplicado à média dos sensores

MÉDIAS DOS SENSORES APLICADOS AO MODELO DE GOMPERTZ			
Média do sensor	Lag (Y1,h)	Rm (Y2, mL/h)	P (Y3, mL)
1	0	32,09	213,87
2	0,1	32,45	209,40
3	0	37,02	237,41

Fonte: Do autor

Figura 20- Curva das médias dos sensores, pelo modelo de Gompertz; (a) sensor01; (b) sensor 02; (c) sensor 03



Fonte: Do autor

A tabela 9 evidencia que praticamente não há fase lag nos experimentos desenvolvidos. Isso se explica pelo material usado na reação anaeróbia. A glicose e o fermento biológico, podem não precisar de tempo de aclimação significativo, como

em situações reais de resíduos de suinocultura, por exemplo, o que pode ter refletido em uma geração praticamente instantânea de gás, o que prejudicou o ajuste do modelo de Gompertz.

No que se refere aos valores de  $R_m$ , percebe-se que as taxas máximas de degradação, foram muito próximas nos três sensores, o que é um bom indicativo de correta mensuração pelo equipamento. Os valores estimados da geração final de gás (P), segundo o modelo de Gompertz, estiveram todos próximos ao valor máximo teórico, mas não ultrapassaram em nenhum momento, o que é mais um bom indicativo. Infere-se ainda que, os valores de P, estiveram próximos nas médias dos três sensores, o que ratifica a calibração feita.

Analisando as curvas geradas pelo modelo de Gompertz, pode-se inferir que as tomadas de dados experimentais possuíam significativa correlação com o modelo. Pode-se observar que em nenhuma das três médias usadas para o modelo, os dados chegaram a fase de estabilização da atividade bacteriana, estando no momento da finalização do experimento, no final da fase ascendente do modelo. Frisa-se que os experimentos rodaram por 9 horas, caso o experimento continuasse sendo computado, possivelmente os valores finais estariam dentro da fase de estabilidade, o que possibilitaria valores de P, cada vez mais próximos dos 249 mL da fermentação da glicose. Infere-se assim, que o sistema de quantificação foi eficaz para o modelo de Gompertz e para a geração de gás durante a fermentação da glicose.

A fim de ratificar o uso do sistema desenvolvido, e confirmar os dados supracitados, decidiu-se realizar um teste com a presença de um experimento estatístico com delineamento composto central (DCC).

## 6 DESENVOLVIMENTO DE UM MÓLUDO PARA MONITORAMENTO EM TEMPO REAL DE PRESSÃO EM BIORREATORES

O Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais (PPGCA) da Universidade Federal de Alfenas, orienta que, para o discente concluir seu Mestrado e solicitar a emissão de seu diploma, o mesmo deve construir um artigo sobre sua dissertação e submetê-lo para publicação. Dessa forma, optou-se por escrever o presente artigo dentro do corpo da própria dissertação, a fim de avaliar os dois contextos de forma simultânea. O artigo encontra-se disposto na seção 6 do presente trabalho.

### 6.1 INTRODUÇÃO

A biodigestão anaeróbia é um processo que se adequa ao tratamento de resíduos sólidos não inertes, com alta carga orgânica (CHERNICHARO, 2007; CAMPOS, 2003; VON SPERLING, 2014). Durante o processo de degradação de matéria orgânica, há geração de diversos tipos de gases. Biodigestores são reatores biológicos, que corretamente projetados garantem tratamento de características físico-químicas de resíduos e geração de gás (KUNZ, 2019). O processo utiliza microrganismos presentes no próprio resíduo sólido para consumir os substratos inseridos no meio, diminuindo assim, a concentração de matéria orgânica do sistema. O processo como um todo, gera gases, como metano, dióxido de carbono e Ácido Sulfídrico (CAMPOS *et al.*, 1999). No geral, biodigestores são utilizados de forma satisfatória para o tratamento ambiental de resíduos. Assim, utilizar de biodigestores para tratar determinados resíduos sólidos se torna interessante, do ponto de vista sustentável de diversas maneiras (HOLM-NIELSEN *et al.*, 2009).

Uma das formas mais comuns de se avaliar a capacidade de um sistema de biodigestão, é por meio de ensaios laboratoriais, chamados Potencial Bioquímico de Metano (PBM). As premissas desses ensaios foram definidas segundo o trabalho de Owen *et al.*, (1979), como um procedimento que mensurasse a biodegradabilidade de forma anaeróbia de uma amostra, comparando os valores encontrados em frascos com substratos, de valores de fundos encontrados em amostras “brancas”. Deve-se respeitar, ainda o espaço vazio no frasco, na hora da inoculação, pois o mesmo será preenchido pelo gás gerado, esse espaço total é chamado de *Headspace*. Há várias técnicas de concentração de inóculo e substratos, sendo escolhida a concentração baseada no objetivo do estudo em questão (ANGELIDAKI *et al.*, 2009; OWEN *et al.*,

1979; HANSEN *et al.*, 2004; HEERENKLAGE *et al.*, 2001;). Um fator importante, é a temperatura do reator. Segundo Hansen *et al.*, (2004), aquecer o reator a temperaturas termofílicas (55°C) faz com que o início das reações químicas aconteça de forma mais rápida. Entretanto, o uso dos ensaios com temperaturas mesofílicas (35°C) garante que o ensaio em bancada seja mais facilmente replicado em escala real.

O processo inicial do PBM, vem passando por melhorias, como evidenciado no trabalho realizado por McEniry e O'Kiely (2012) utilizando transdutores de pressão para aferir a geração de gás em um método manométrico. A metodologia para a realização do método manométrico abriu possibilidades para que se colocassem sensores acoplados a microcontroladores para aferir em tempo real a geração de gás. Entretanto, o custo de equipamentos é uma desvantagem significativa (GUWI, 2004 apud SIMÕES; OKAWA, 2020). Atualmente, o método mais moderno para realização de ensaios automatizados de bancada, se dá pelo The Automatic Methane Potential Test System (AMPTS). Apesar de possuir custo considerável, o AMPTS fornece dados online em tempo real em termos de medição de gás, por meio de deslocamentos de líquidos e fluabilidade. (SIMÕES; OKAWA, 2020). A metodologia utilizada pelo aparelho passou por testes em mais de 40 laboratórios europeus, em análises comparativas com ensaios PBM tradicionais, e, a metodologia AMPTS apresentou resultados satisfatórios (HAFNER *et al.*, 2020). O método automatizado apresentou bons resultados, ainda, em trabalhos realizados por McEniry e O'Kiely (2012) para ensaios com pastagens como substrato e por McEniry *et al.*, (2013) em ensaios com silagens. O método foi utilizado ainda por Himanshu *et al.*, (2017) de forma a comparar ensaios feitos com silagens e cevadas como substratos, entre a metodologia AMPTS e *m*PBM, encontrando resultados semelhantes.

Os métodos voltados para mensuração da geração de gás em reatores, com baixo custo, possuem baixa sensibilidade e também baixa automatização. Aquino *et al.*, (2007) evidenciou como método quantitativo simples para mensuração indireta de metano, o deslocamento de uma solução alcalina, com a utilização de um frasco de incubação, um frasco com solução de hidróxido de sódio (frasco de Mariotte) e uma proveta graduada. Dessa forma, quando há a despressurização do frasco de incubação, há a expulsão da solução de hidróxido de sódio, que se dá indiretamente pelo volume deslocado pelo metano. Por sua vez, Alves *et al.*, (2019), utilizou desse

mesmo método, para mensurar indiretamente a produção de gás com efluentes da indústria de laticínios. Entretanto, o volume deslocado é alocado em provetas, que possuem baixa graduação volumétrica, possuindo assim, erro acumulado significativo. No que se refere a forma de tomada de dados. A mensuração dos métodos, necessita de acompanhamento, e de leitura manual do mesmo.

Todo ensaio é realizado visando investigar características de um sistema, tais características observadas são os resultados avaliados. Design of Experiments (DOE) é um modelo que auxilia a determinar a alocação e método dos ensaios que serão realizados, de forma a satisfazer os objetivos pré-definidos do trabalho (PARK, 2007). No DOE, fatores são fontes que influenciam a função objetivo do ensaio, são dadas pelas variáveis do ensaio. Níveis são os valores desses fatores, e a função característica se aplica ao objetivo do design experimental (MONTGOMERY, 1991). O Delineamento Composto Central (DCC) é um fatorial de  $2^k$  em que o ponto central e os pontos em níveis inferiores e superiores são adicionados. O modelo é aplicável quando a curvatura do modelo estatístico utilizado for significativa e importante (ANDERSON; WHITCOMB, 2010). A “Analysis of Variance” (ANOVA) é possivelmente a ferramenta mais utilizada para analisar os resultados dos ensaios. O método decompõe a variabilidade total observada dentro de uma variável de resposta do modelo utilizado. Dessa forma, avalia o “valor estatístico” desses fatores de variação (ANDERSON; WHITCOMB, 2010; MYERS *et al.*, MONTGOMERY; ANDERSON-COOK, 2009). O modelo de Gompertz é um dos modelos sigmóides mais usados para ensaios que envolvem crescimento e foi aplicado pela primeira vez por Benjamin Gompertz, em 1825. O modelo evoluiu e vem sendo parametrizado por pesquisadores, o que aumenta seu ramo de aplicação, como o modelo sugerido por Zwietering *et al.*, (1990) que atualmente é um dos mais comuns para crescimento bacteriano (TJORVE; TJORVE, 2017). O modelo também vem sendo usado com sucesso na utilização de ensaios PBM, conforme evidenciado por Budiyo, Syaichurrozi e Sumardiono (2013), Etuwe, Momoh e Iyagba (2016) e por Shamurad *et al.*, (2019), que relacionam a produção cumulativa de gás, o potencial máximo de geração de gás, a taxa de produção de gás por hora, e a fase lag, referente ao início da geração de gás no sistema.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver um sistema automatizado de monitoramento em tempo real de pressão em biorreatores, e realizar

análise de eficácia em um cenário específico simulado, com a realização de um delineamento estatístico, conforme indicado por Rodrigues e Lemma (2005) e com os dados obtidos experimentalmente, sendo ajustados ao modelo de Gompertz.

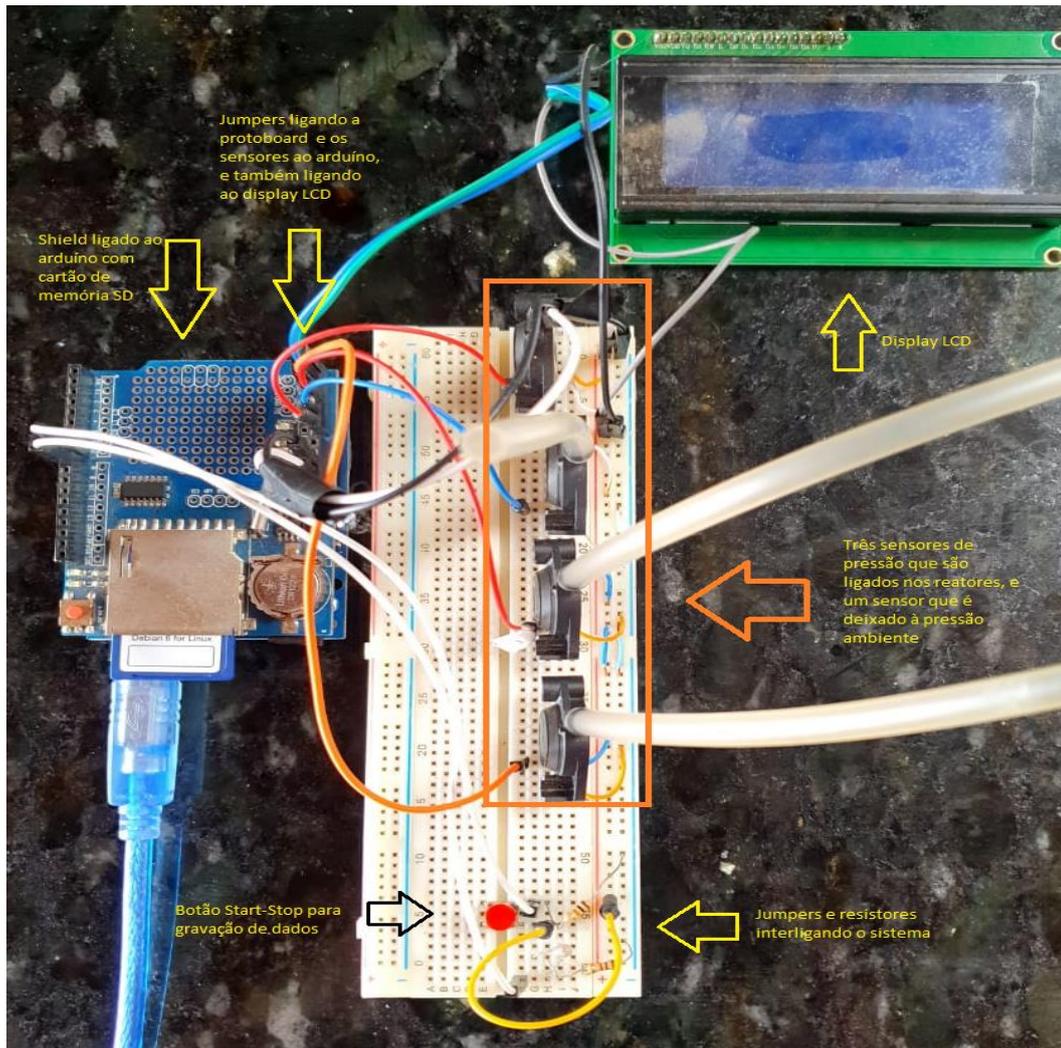
## 6.2 METODOLOGIA

### 6.2.1 Desenvolvimento do módulo de monitoramento

Pensando em desenvolver o módulo de monitoramento de variação de pressão, decidiu-se utilizar sensores, em uma adaptação do método manométrico, como feito por McEniry e O'Kiely (2012). A fim de gerar maior quantidade de dados, decidiu-se utilizar microcontroladores para verificar com maior rapidez a diferença de pressão no sistema. Assim, optou-se por utilizar um Arduíno como microcontrolador de baixo custo, inserindo nele programação a fim de replicar outros modelos de trabalho, como o ensaio desenvolvido por Shamurad *et al.*, (2019).

O Arduíno possui uma placa de circuito acoplada em sua estrutura, para que seja possível inserir um cartão de memória no mesmo. Em sua matriz de contato são dispostos 4 sensores de pressão, do modelo MPX5700 (FREESCALE, 2012). Dos 4 sensores, 3 foram conectados aos respectivos reatores (para realização de ensaios em triplicata), e o quarto não foi conectado a nenhuma estrutura, para ser utilizado como referência para a pressão ambiente. O Arduíno, por sua vez, é conectado também a um visor LCD, que foi programado para plotar a medição de pressão em tempo real. Por fim, há um botão na matriz de contato, que ao ser acionado inicia a gravação de todos os dados captados, no cartão de memória. Assim, programou-se o Arduíno para que, a cada 4 segundos, um novo dado fosse armazenado no cartão de memória. O custo do Arduíno juntamente com a placa para entrada de cartão de memória e o display LCD, foi de aproximadamente 100 R\$. Já o custo total dos 4 sensores de pressão utilizados, foi de 600 R\$. A aparelhagem realizada junto ao Arduíno segue evidenciada na figura 21.

Figura 21- Modelo aparato experimental



Fonte: Do autor

### 6.2.2 Integração do módulo aos biorreatores

Utilizou-se como reatores, 3 frascos de Borosilicato de 1L. Na tampa do frasco, fez-se uma adaptação para que fosse possível a captação da pressão no interior do reator. Assim, fez-se um furo no centro da tampa de plástico do frasco, e introduziu-se uma mangueira de infusão intravenosa, utilizando Araldite® para fixa-la sem vazamentos no sistema. A ponta da mangueira foi introduzida na extremidade de leitura do sensor de pressão, permitindo assim a tomada de dados do interior do reator. O custo total dos frascos, com Araldite® e as mangueiras de infusão, foi de 250 R\$. O custo total do módulo e sua integração, foi de aproximadamente 1.000,00 R\$. O modelo de reator segue evidenciado na figura 22.

Figura 22- Modelo tampa reator



Fonte: Do autor

### 6.2.3 Calibração

Para decidir sobre a utilização do sensor em ensaios de bancada, primeiramente foi realizada a calibração do sistema como um todo. Para isso, foi acoplado um cateter intravenoso na saída lateral da mangueira atrelada ao reator. Com o código do Arduíno ativo, acoplou-se uma seringa plástica de uso em enfermagem, com volume de 50 mL, e injetou-se ar no sistema, de 10 em 10 ml, até chegar no total de 300 mL anotando sempre a diferença de valor incidente no display LCD. Assim, realizou-se o presente procedimento para os 3 sensores acoplados aos reatores, de forma a realizar 3 equações da reta para os respectivos sensores. Os valores encontrados eram substituídos na programação incidida no Arduíno, de forma a ajustar a calibração do equipamento. Fez-se o ajuste da calibração 3 vezes para cada um dos sensores.

### 6.2.4 Preparação para validação de dados

Após o ajuste das curvas de calibração do sensor, os mesmos foram liberados para validação da calibração em ensaios de bancada. Assim, foram usados para as realizações dos ensaios, 200 mL de água, 1g de glicose PA e 1g de fermento biológico comercial. Optou-se por usar glicose, pela mesma possuir uma estequiometria bem

definida. O volume de água foi mensurado a partir de um balão volumétrico. Foi feita ainda, a mensuração do *headspace* utilizado, com uma proveta. Dessa forma, o valor encontrado se deu pela diferença da capacidade total do frasco de borosilicato, pelos 200 mL de água. O valor encontrado utilizado pelo *headspace* foi então substituído na codificação do software, e replicado para o Arduino. No código utilizado, há ainda a possibilidade da alteração da temperatura padrão do sistema, o que foi alterado baseado nas premissas escolhidas para cada ensaio.

Os reatores ficaram imersos em banho maria configurado a 34°C e com duração de 9 horas. Frisa-se que os ensaios de bancada foram sempre realizados com os 3 sensores atuando simultaneamente, de forma a comparar os resultados dos 3 com a variação de pressão ambiente. Foram realizados três ensaios com configurações idênticas. Após a realização dos ensaios, fez-se a transferência dos dados armazenados para um arquivo Excel. Feito isso, foram realizadas comparações entre as tomadas de dados, gerando primeiramente um valor de pressão ambiente, que foi comparado ao valor anterior a cada medição, gerando um delta de medição, e um valor cumulativo de variação de pressão. Esse valor foi comparado aos valores dos reatores a cada medição realizada. O valor corrigido da pressão, foi então multiplicado pelo valor da variação de gás no sistema, encontrado na calibração dos sensores, gerando assim o valor final corrigido de geração de gás para aquele determinado período de tempo. Como é gerado um dado a cada 4 segundos, e o ensaio rodou por horas, optou-se por padronizar os dados que fossem inseridos na curva de geração de gás. Assim, foi feita a média de todas as tomadas de dados feitas a cada 10 minutos de ensaio, resultando em um ponto plotado na curva de geração. As curvas foram geradas com os três sensores simultaneamente, em seguida, fez-se a média por sensor dos resultados em cada um dos três ensaios, plotando-se assim uma curva final por sensor. Os erros das medições foram calculados conforme a equação (6.1) (RODRIGUES; IEMMA,2005).

$$\text{Erro padrão (ml)} = \frac{\text{Desvio Padrão Amostral}}{\sqrt{\text{número de amostras}}} \quad (6.1)$$

onde o desvio padrão e o número de amostras são calculados baseados nos números das médias de geração a cada 10 minutos, conforme evidenciado anteriormente no texto. Os dados finais de geração são comparados ainda com a fórmula de fermentação da glicose, assim, tem-se a equação (6.2)



onde a massa molar da glicose equivale a 180g, e a fermentação da glicose gera 2 mols de dióxido de carbono. Assim, com 1g de glicose, tem-se o equivalente a 0,0055 mols de glicose, que geram 0,0111 mols de dióxido de carbono. Sabendo-se que 1 mol equivale a 22,4L, tem-se a geração teórica estimada em 249 mL de dióxido de carbono. A metodologia supracitada foi repetida por três vezes, nas mesmas configurações, com os três sensores rodando simultaneamente em cada uma delas. Em seguida, para finalizar a validação de dados dos sensores, fez-se a média das tomadas de dados separadas por sensores. Em posse dos dados experimentais das médias, pode-se aplicar os mesmos ao modelo de Gompertz. A parametrização do modelo para geração de gás, é disposta na equação (6.3):

$$Y = P * \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{Rm * e(1)}{P} (\delta - t) + 1 \right] \right\} \quad (6.3)$$

onde  $Y$  é a produção cumulativa de gás no tempo  $t$ ,  $P$  é o potencial máximo de metano (mL),  $Rm$  é a taxa de produção de gás por hora (mL/h), “ $e(1)$ ” é uma constante matemática (2,718) e  $\delta$  é dada pela fase lag, referente ao início da geração de gás no sistema, em horas (h) (SHAMURAD *et al.*, 2019). Os valores encontrados foram usados para comparação com os valores teóricos da fermentação da glicose, a fim de entender se os resultados dos sensores estavam corretos.

### 6.2.5 PROTOCOLO DE ENSAIOS

Após a validação dos dados, optou-se em realizar um teste através de Delineamento Composto Central (DCC), utilizou-se como base o mesmo aparelho desenvolvido na fase de calibração, havendo apenas mudanças no delineamento dos ensaios realizados. O número de ensaios a partir das variações dos fatores “ $k$ ”, é dado a partir da equação (6.4):

$$N^{\circ} \text{ de ensaios} = r * 2^k + cp \quad (6.4)$$

onde: “ $r$ ” se refere ao número de repetições genuínas nos fatores “ $k$ ”, e “ $cp$ ” se dá pelo número de repetições nos pontos centrais. (RODRIGUES; IEMMA, 2005). No presente trabalho, o valor de “ $r$ ” foi 1, “ $k$ ” foi igual a 2, e “ $cp$ ” igual a 3, totalizando 7 ensaios.

A composição do reator foi de 200 mL de água, 1g de glicose PA e 1g de fermento biológico comercial, cada ensaio rodou por 12 horas. A temperatura do banho maria e o pH das soluções foram ajustadas conforme indicado pela tabela 10, que evidencia o planejamento experimental para os protocolos de ensaios.

Tabela 10- Configurações para delineamento estatístico realizado

N° Ensaio	pH	Temperatura (°C)
1	5,5	20
2	5,5	40
3	8,5	20
4	8,5	40
5	7	30
6	7	30
7	7	30

Fonte: Do autor

Após a tomada dos dados finais de geração de gás captados pelo ensaio, aplicou-se os mesmos ao modelo de Gompertz, e, com a ajuda da ferramenta solver, pode-se encontrar os valores das variáveis dependentes do sistema. Os resultados foram validados através de análise de variância pela ferramenta ANOVA, com nível de significância 10%, ou seja, verificando um padrão de resultados para 90% das vezes que o ensaio for realizado nessas situações. Os dados finais de geração cumulativa foram ainda comparados com o valor teórico para fermentação da glicose. O aparato desenvolvido está evidenciado na figura 23.

Figura 23- Ensaio em execução



Fonte: Do autor

## 6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.3.1 Calibração

As figuras 24, 25 e 26 apresentam os resultados finais das curvas de calibração dos sensores de pressão.

Figura 24- Curva de calibração sensor 01



Fonte: Do autor

Figura 25- Curva de calibração sensor 02



Fonte: Do autor

Figura 26- Curvas delineamentos 1 e 3



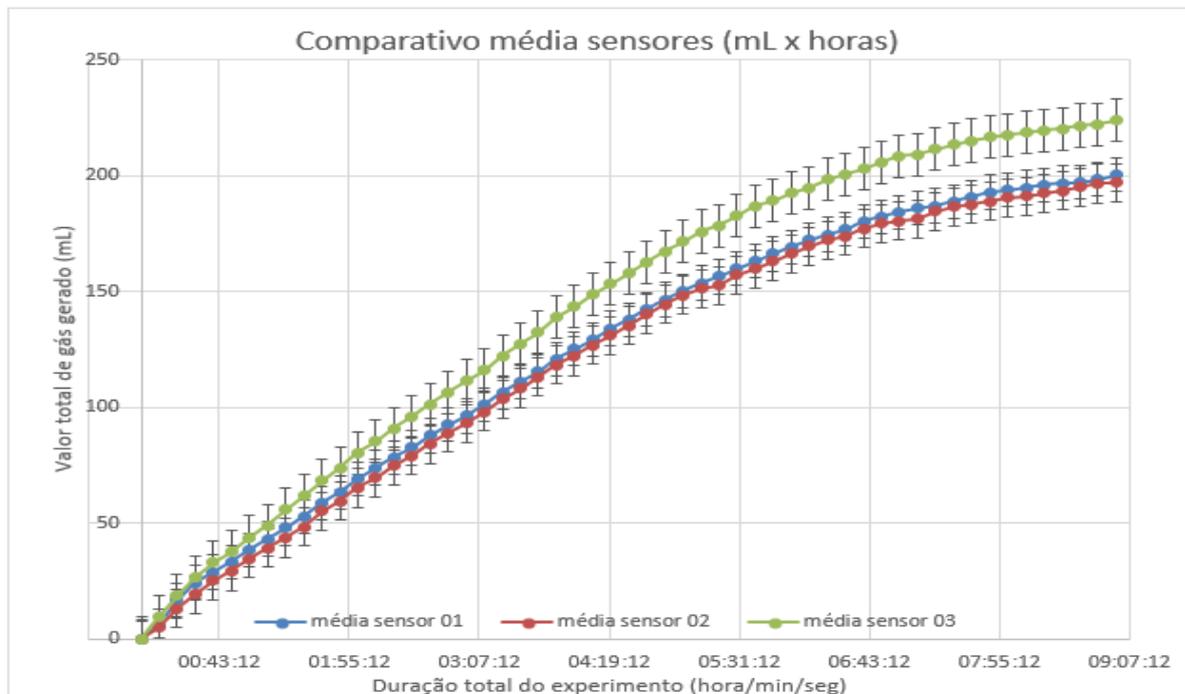
Fonte: Do autor

Percebe-se pelas curvas de calibração dos sensores 1, 2 e 3, que todas apresentaram comportamento eficaz no que se refere a resposta do sensor quando estimulado por meio de injeção de ar no sistema. Houve adição de ar de 10 em 10 mL e o sensor captou essa variação, retornando  $R^2$  aceitável nos três sensores, significando assim que a calibração foi feita de forma satisfatória. Dessa forma, liberou-se o mesmo para a etapa de validação de dados em ensaios de bancada.

### 6.3.2 Validação de dados

A curva final gerada com a média de todos os ensaios em cada um dos três sensores segue na figura 27

Figura 27- Curva comparativa médias sensores



Fonte: Do autor

A figura 27 evidencia que as curvas médias apresentaram comportamento semelhante. A curva do sensor 03, teve valores 15 % maiores que os sensores 01 e 02, uma hipótese muito plausível para tal situação, é a ocorrência de erro experimental no sistema, que pode ser referente à problemas na pesagem da glicose e/ou fermento, ou relacionado à posição do reator 3 no banho maria. Isso ocorre pois o banho maria utilizado não possui agitação para homogeneização da água. Assim, como o reator 03 estava poucos centímetros mais perto da resistência, há a hipótese de a temperatura em seu interior estar ligeiramente mais alta que nos reatores 1 e 2, acelerando a fermentação da glicose. Os dados do sensor 03 apresentaram valor final de  $223,8 \pm 9,214$  mL. As curvas dos sensores 01 e 02, por sua vez, apresentaram semelhança significativa, com as barras de erros se sobrepondo e se interceptando ao longo de toda a curva dos ensaios. O sensor 01 apresentou valor final de  $200,5 \pm 8,236$  mL e o sensor 02 apresentou valor final de  $196,9 \pm 8,257$  mL.

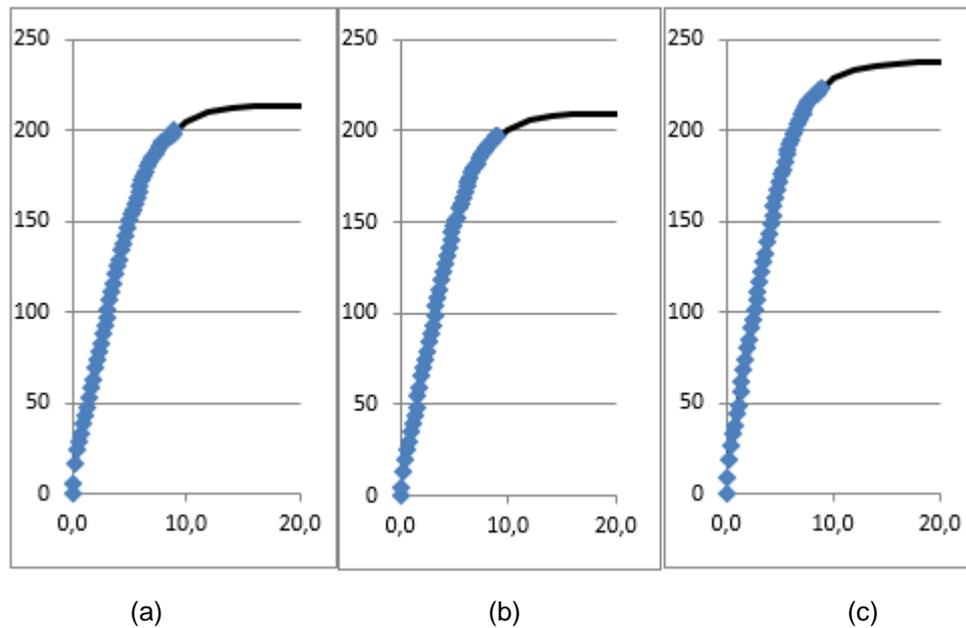
Comparando-se os dados experimentais ao valor teórico da fermentação do substrato, tem-se que todos estão abaixo do limite da fermentação total teórica da glicose para 1g (249mL), estando os valores finais aproximadamente 80% do valor total da fermentação, o que vai de encontro ao que Angelidaki e Sanders (2004) e Angelidaki *et al.*, (2009) escreveram, evidenciando que em ensaios PBM o resultado sempre ficará um pouco abaixo do potencial teórico, visto que uma fração do substrato é utilizada para sintetizar a biomassa bacteriana. Aplicou-se ainda, os dados experimentais ao modelo de Gompertz. Os resultados obtidos para fase Lag, taxa máxima de geração de gás ( $R_m$ ), e Produção final de gás (P), estão dispostos na tabela 11 e as curvas teóricas das médias dos sensores aplicadas ao modelo de Gompertz, estão dispostas na figura 28.

Tabela 11- Média de leitura dos sensores aplicados ao modelo de Gompertz

MÉDIAS DOS SENSORES APLICADOS AO MODELO DE GOMPERTZ			
Média do sensor	Lag (Y1,h)	Rm (Y2, mL/h)	P (Y3, mL)
1	0	32,09	213,87
2	0,1	32,45	209,40
3	0	37,02	237,41

Fonte: Do autor

Figura 28- Curva das médias dos sensores, pelo modelo de Gompertz; (a) sensor01; (b) sensor 02; (c) sensor 03



Fonte: Do autor

Conforme evidenciado na Tabela 11, não foi verificada fase lag nos ensaios desenvolvidos. Uma hipótese para essa situação é devido ao material usado na reação anaeróbia. Visto que o cenário do ensaio foi simulado, feito com glicose comercial e fermento biológico, a geração de gás pode ser praticamente instantânea, visto que os microrganismos podem não precisar de tempo de aclimatação significativo no presente cenário. Essa situação pode ter prejudicado o ajuste do modelo de Gompertz, referente à fase Lag.

No que se refere aos valores de  $R_m$ , percebe-se que as taxas máximas de degradação, foram muito próximas nos três sensores. Os valores estimados da geração final de gás ( $P$ ), segundo o modelo de Gompertz, estiveram todos próximos ao valor máximo teórico (249 mL), mas não o ultrapassaram em nenhum momento, o que é mais um bom indicativo. Infere-se ainda que, os valores de  $P$ , estiveram próximos nas médias dos três sensores, o que ratifica a calibração feita. Analisando as curvas geradas pelo modelo de Gompertz, pode-se inferir que as tomadas de dados experimentais possuíram significativa correlação com o modelo.

Com finalidade de ratificar o uso do sistema desenvolvido, e confirmar os dados supracitados, decidiu-se realizar um ensaio estatístico com delineamento composto central (DCC).

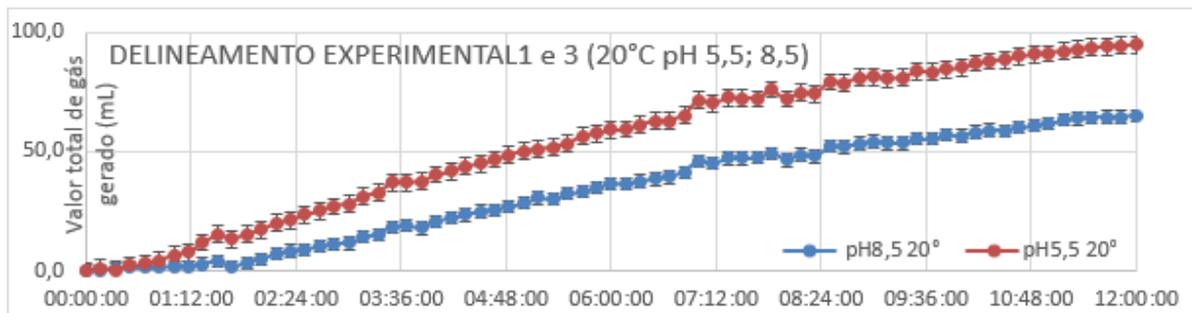
### 6.3.3 Resultado protocolo de ensaios

Desenvolveu-se um cenário simulado específico com tomada de dados por 12 horas baseado no delineamento composto central para posterior análise estatística por meio da ferramenta ANOVA, com ajuste baseado no modelo de Gompertz.

#### 6.3.3.1 Ensaios 1 e 3

Seguindo o protocolo de ensaios, realizou-se simultaneamente os ensaios 1, e 3. A curva de geração de gás para os respectivos ensaios está disposta na figura 29.

Figura 29- Curvas delineamentos 1 e 3



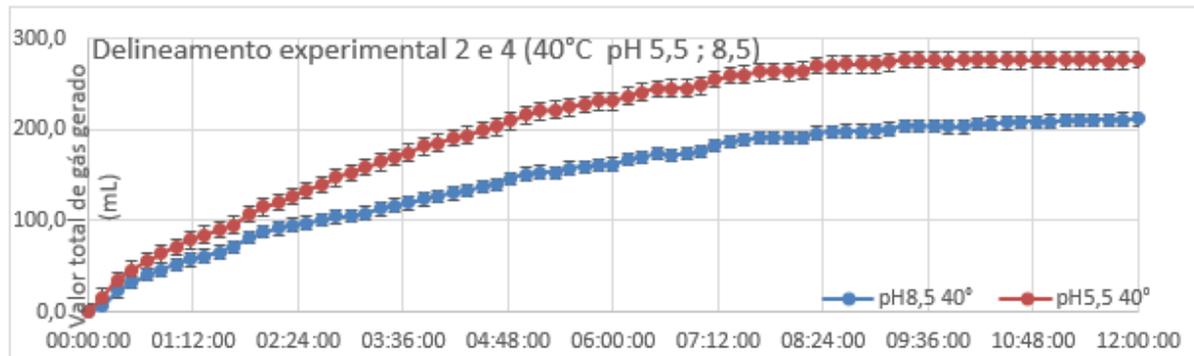
Fonte: Do autor

O valor final de geração de gás do ensaio 01 foi de  $94,8 \pm 3,51$  mL, e o valor final do ensaio 03 foi de  $65,1 \pm 2,63$  mL. Percebe-se que até o momento da interrupção do teste, houve geração maior de gás na solução com substrato com pH ácido em comparação a solução alcalina. Entretanto, não se pode inferir que o valor final da geração de gás é maior com pH ácido, visto que até o momento da interrupção do teste, o valor de gás final gerado, era de menos de 40% do valor total teórico para a fermentação de 1g de glicose, ou seja, o perfil da geração de gás ainda poderia mudar, até a finalização da fermentação. Analisando a curva de geração, percebe-se que, com o ensaio ocorrendo na temperatura de 20°, a produção de gás ocorre de forma mais lenta, o que prejudica análise da geração de gás em 12 horas de tomada de dados.

#### 6.3.3.2 Ensaios 2 e 4

Dando sequência nos ensaios, seguindo o planejamento experimental, realizou-se os ensaios 2, e 4, simultaneamente realizados. A curva de geração de gás está disposta na figura 30.

Figura 30- Delineamentos 2 e 4



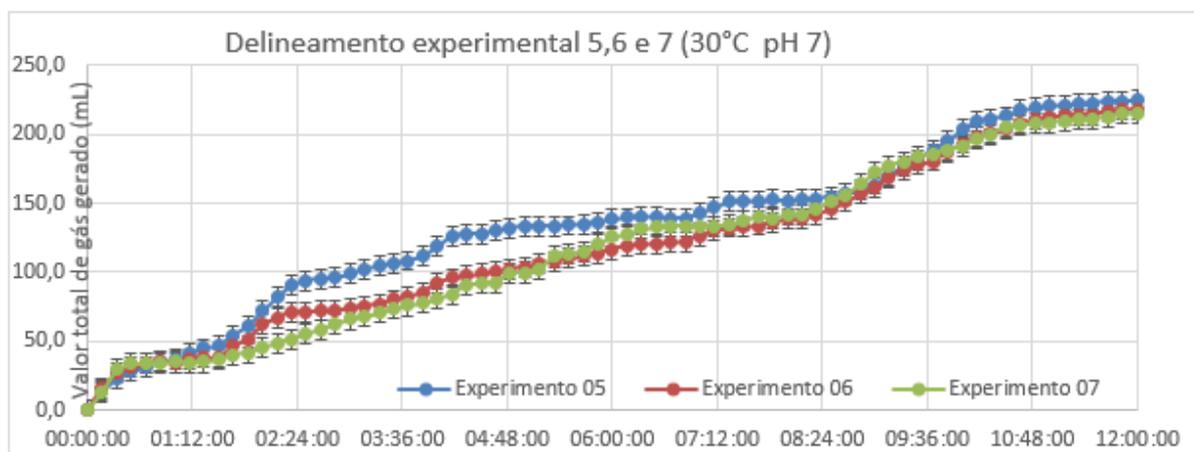
Fonte: Do autor

O valor final de geração de gás do ensaio 02 foi de  $277,1 \pm 9,234$  mL, e o valor final do ensaio 04 foi de  $211,9 \pm 6,914$  mL. O valor captado pelo sensor no ensaio 02, ultrapassou ligeiramente o valor teórico final para fermentação de 1g de glicose (249 mL). Isso significa que pode ter havido erro experimental durante a preparação do ensaio, ou pelo acoplamento incorreto do sensor de gás na protoboard, ou ainda, pode ter havido degradação de uma pequena parte do fermento biológico utilizado.

### 6.3.3.3 Ensaios 5,6 e 7

Finalizando a execução do protocolo de ensaios, realizou-se os ensaios 5, 6 e 7. A curva de geração de gás para os ensaios 5, 6 e 7 está disposta na figura 31.

Figura 31- Curvas delineamento 5,6 e 7



Fonte: Do autor

O valor final de geração de gás do ensaio 05 foi de  $224,8 \pm 6,974$  mL, o valor final do ensaio 06 foi de  $218,4 \pm 6,935$  mL e o valor final do ensaio 07 foi de  $215,1 \pm 7,215$  mL. Apesar do ensaio 05 ter apresentado um perfil diferente dos demais entre o intervalo de 2 a 6 horas de duração, o comportamento da curva se enquadrou

no fim do ensaio, gerando valores finais semelhantes dentro dos erros esperados. Os valores captados pelos sensores nos ensaios 05, 06 e 07, convergem com o esperado quando comparados ao valor teórico final para fermentação de 1g de glicose (249 mL). Isso significa que uma grande parte da glicose já havia sido fermentada, mas, que ainda havia material a ser convertido em dióxido de carbono.

#### 6.3.3.4 ANOVA

Para a realização da análise de variância, foi necessário definir os valores das variáveis independentes e dependentes do sistema. As variáveis independentes são dadas por pH (x1) e Temperatura (x2, °C), e as dependentes dadas pela fase lag do sistema (Y1, h), taxa de geração (Y2, mL/h) e potencial máximo de geração de gás (Y3, mL). Assim, utilizou-se do Solver para encontrar os dados das variáveis dependentes, a partir da aplicação do modelo de Gompertz. Os valores utilizados dentro da ferramenta ANOVA, estão dispostos na tabela 12.

Tabela 12- Dados experimentais – ANOVA

DADOS EXPERIMENTAIS – ANOVA					
Experimento	pH (x1)	Temp (x2, °C)	Lag (Y1,h)	Rm (Y2, mL/h)	P (Y3, mL)
1	5,5	20	0,58	11,26	101,05
2	5,5	40	0	44,30	283,74
3	8,5	20	1,58	8,19	70,25
4	8,5	40	0	28,10	217,89
5	7	30	0	18,96	324,25
6	7	30	0	18,35	462,59
7	7	30	0	18,40	268,53

Fonte: Do autor

A tabela 13 apresenta análise de variância da regressão realizada para um nível de confiança de 90%, apresentando os p-valores, valores dos coeficientes, média dos quadrados, F-calc, erro padrão e graus de liberdade no que se refere à influência da temperatura e pH na taxa de geração de gás (Rm). A tabela 14 se refere ao volume máximo gerado (P) e a tabela 15 se refere à fase lag do sistema.

Tabela 13- Dados Rm ANOVA

Rm (Y2, mL/h)	Coefficiente	Erro padrão	p-valor	Média dos quadrados	F-calc	Graus de liberdade
Média	21,08	1,26	0,0005	-	-	-
$x_1$	-4,82	1,67	0,0629	-	-	-
$x_2$	13,24	1,67	0,0042	-	-	-
$x_1 \cdot x_2$	-3,28	1,67	0,1435	-	-	-
Regressão	-	-	0,01256	279	25,1	3
Resíduos	-	-	-	11,1	-	3
Falta de ajuste	-	-	0,00341	33,1	291,8	1
Erro puro	-	-	-	0,1	-	2
R <sup>2</sup> = 96,17%						

Fonte: Do autor

Tabela 14- Dados P ANOVA

P (Y3, mL)	Coefficiente	Erro padrão	p-valor	Média dos quadrados	F-calc	Graus de liberdade
Média	246,90	60,84	0,0270	-	-	-
$x_1$	-24,16	80,48	0,7836	-	-	-
$x_2$	82,58	80,48	0,3804	-	-	-
$x_1 \cdot x_2$	-8,76	80,48	0,9202	-	-	-
Média	246,90	47,92	0,0036	-	-	-
$x_2$	82,58	63,39	0,2494	-	-	-
Regressão	-	-	0,24944	27279,2	1,7	1
Resíduos	-	-	-	16074,0	-	5
Falta de ajuste	-	-	0,34846	20134,0	2,0	3
Erro puro	-	-	-	9983,9	-	2
R <sup>2</sup> = 25,34%						

Fonte: Do autor

Tabela 15- Dados Lag ANOVA

Lag (Y1,h)	coeficiente	Erro padrão	p-valor	Média dos quadrados	F-calc	Graus de liberdade
Média	0,31	0,15	0,1393	-	-	-
$x_1$	0,25	0,20	0,3103	-	-	-
$x_2$	-0,54	0,20	0,0773	-	-	-
$x_1 * x_2$	-0,25	0,20	0,3103	-	-	-
Média	0,31	0,17	0,1266	-	-	-
$x_2$	-0,54	0,22	0,00600	-	-	-
Regressão	-	-	0,05998	1,2	5,9	1
Resíduos	-	-	-	0,2	-	5
Falta de ajuste	-	-	-	0,3	Infinito	3
Erro puro	-	-	-	0	-	2
R <sup>2</sup> = 53,98%						

Fonte: Do autor

Com base nos dados retornados pela ferramenta ANOVA, pode-se primeiramente inferir que a fase lag não tem relação com o modelo nas condições simuladas utilizadas. Essa situação foi observada previamente, quando se calculou a fase lag durante a etapa de calibração do equipamento. Assim, os dados calculados na ferramenta ANOVA, ratificam essa situação, visto que, com todas as variáveis independentes, p-valor estava fora do intervalo aceitável. Em seguida, retirando a variável  $x_1$ , houve queda no R<sup>2</sup> da equação, apresentando valor de 53,98%.

No que se ao valor final de gás gerado (P) tem-se que, quando estavam todas variáveis independentes no sistema, os valores de p-valor estavam fora do limite aceitável para o intervalo de confiança escolhido para o ensaio,  $x_1$  apresentou p-valor de 0,7836,  $x_2$  apresentou p-valor de 0,3804 e  $x_1 \cdot x_2$  apresentou p-valor de 0,9202. Optou-se então por retirar  $x_1$ , entretanto, o valor de  $x_2$  permaneceu insatisfatório, sendo o p-valor de 0,2494. Então, pode-se inferir que para o cenário simulado, nas condições determinadas no planejamento experimental, a geração final de gás (P), não é influenciada pelas situações discutidas no presente trabalho. Essa particularidade da geração final de gás, foi observada quando se aplicou os dados experimentais no Solver, visto que, o valor teórico para P nos ensaios 1 e 3, foi bem abaixo do esperado. Isso pode ter ocorrido pois em temperaturas

amenas, a reação de fermentação ocorre de maneira mais lenta. Assim, infere-se que 12 horas não é tempo suficiente de ensaio para que os pontos coletados sejam satisfatórios. Dessa forma, terminar o ensaio precocemente, pode ter prejudicado a obtenção de dados para o modelo de Gompertz, e pode ter feito a curva estabilizar antes do período correto, o que corroborou para que não houvesse significância suficiente pela análise da ferramenta ANOVA. Recomenda-se assim, que os ensaios sejam feitos na presente metodologia por maior período de tempo, para que, ocorra de modo satisfatório a fermentação da glicose. Entretanto, como o foco do trabalho é a criação e validação de um sistema de medição de baixo custo, a questão do pouco tempo de tomada de dados, não tira o êxito da proposta de trabalho.

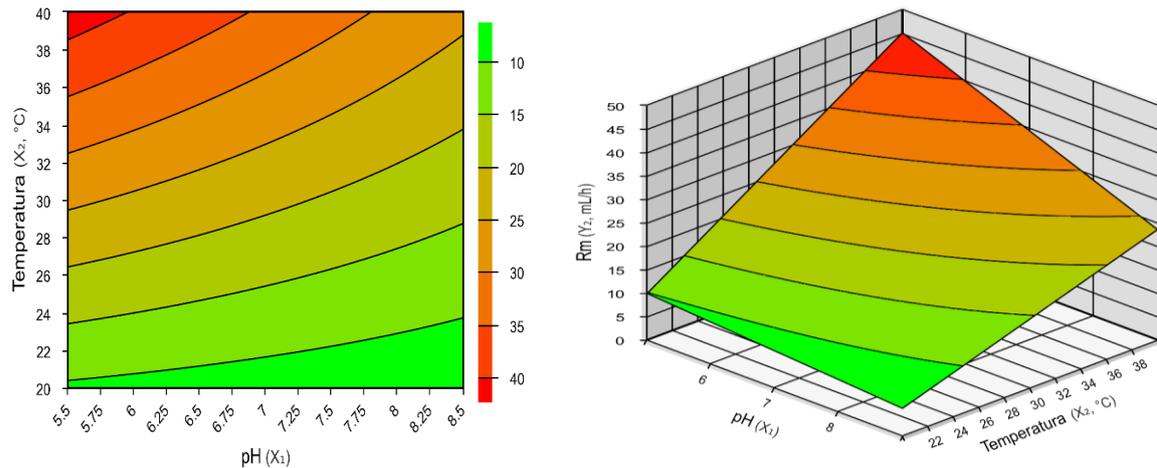
No que se refere à taxa máxima de geração de gás ( $R_m$ ), tem-se que, logo no primeiro cenário, com todas variáveis independentes no sistema, os valores de p-valor foram satisfatórios, e o sistema apresentou  $R^2 = 96,17\%$ . Assim, tem-se que  $R_m$  é influenciado diretamente por variações no pH ( $x_1$ ) e na temperatura ( $x_2$ ), possibilitando escrever a equação para maximizar os valores de  $R_m$  em função de  $x_1$  e  $x_2$ . Para isso, utiliza-se a equação 6.5,

$$Y_2 = 21,08 - 4,82 x_1 + 13,24 x_2 - 3,28 x_1 x_2 \quad (6.5)$$

onde  $R_m$  equivale a  $Y_2$ ,  $x_1$  equivale a qualquer valor de pH no intervalo entre 5,5 e 8,5 e  $x_2$  equivale a qualquer valor de temperatura que esteja entre o intervalo de 20 a 40 °C.

A partir dos resultados, construiu-se uma superfície que relaciona fatores e respostas para as variáveis independentes  $x_1$  e  $x_2$  e como as mesmas afetam  $R_m$ . A superfície está evidenciada na figura 32, onde percebe-se que a imagem converge com a equação 6.5.

Figura 32- Superfície de resposta para pH e Temperatura (°C), em Rm.



Fonte: Do autor

#### 6.4 CAPACIDADE DOS SENSORES

Com base nas tomadas de dados apresentadas na fase de validação e pelo ensaio feito com DCC, pode-se inferir que o equipamento desenvolvido trabalhou de forma satisfatória em situações reais. Os sensores apresentaram bom comportamento no que se refere à captura de dados durante um processo de pesquisa conforme evidenciado no processo de validação de dados. Frisa-se que o DCC, foi feito para auxiliar na observação da tomada de dados do sensor, assim, não há como objetivo no presente trabalho, avaliar o resultado estatístico do ensaio como um todo. Percebe-se que os sensores reagiram à diferentes variações de temperatura e pH. Infere-se ainda que, o equipamento apresentou linearidade na captação de seus dados. Dessa forma, percebe-se que, perto das características das metodologias existentes, o equipamento desenvolvido possui vantagens significativas, visto que o mesmo é automatizado e possui boa sensibilidade.

#### 6.5 CONCLUSÃO

Com base nos testes realizados pode-se pontuar que o método desenvolvido para quantificar a geração de gás é eficaz, e, mostrou comportamento satisfatório tanto na validação da calibração, como no teste em cenário simulado, atendendo ao objetivo principal do presente artigo que era desenvolver um sistema de baixo custo para quantificação de gás e submetê-lo a um teste estatístico em um cenário simulado. Ratifica-se ainda, que, em 90% das vezes, o comportamento dos ensaios realizados estará dentro do comportamento proposto a partir do DCC realizado, em situações com pH entre 5,5 e 8,5 e temperatura entre 20 e 40°C, infere-se ainda, que, quando comparado à outras metodologias existentes, o equipamento proposto mostrou

possuir grandes vantagens de utilização apesar do baixo custo para desenvolvimento do mesmo.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do desenvolvimento do presente trabalho pode-se estabelecer que o sistema desenvolvido para mensuração de gás realiza aquilo que lhe é proposto. Assim, primeiramente com a metodologia descrita em pré-teste, pode-se perceber a necessidade de um aparato experimental robusto e bem embasado, visto que o primeiro ensaio teve de ser abortado. Já na nova metodologia, na fase de calibração, com a realização de experimentos operacionais para ajustes dos sensores, observou-se que o novo sistema automatizado já iniciava com bons resultados, apresentando boa simetria nas tomadas de dados.

No teste realizado com DCC, os resultados ratificaram a eficácia do método de medição em cenário específico. Assim, pode-se concluir que para 90% das vezes, dentro do intervalo específico de atuação do experimento (que se deu com pH entre 5,5 e 8,5 e temperatura entre 20 e 40°C) os resultados para taxa máxima de geração de gás tem significância estatística, o que fornece uma segurança significativa para o uso do equipamento em futuros testes. A análise de variância ANOVA retornou ainda que o efeito da temperatura e do pH são criticamente importantes nas condições do experimento em questão. Isso permitiu que se chegasse a um equacionamento do padrão ótimo para aumento de  $R_m$ , dentro do intervalo observado no DCC.

No que se refere à fase Lag, quando se ajustou os dados das médias dos sensores na calibração pelo modelo de Gompertz, não se observou dados significativos da presença da mesma no sistema. Essa situação foi posteriormente ratificada pelo DCC. Isso se refere ao fato de as bactérias fermentativas não necessitarem de tempo significativo para se aclimatar ao reator com água e glicose, o que se difere de situações reais de degradação anaeróbia, por exemplo.

Finalmente, não foi observada significância estatística pela ferramenta ANOVA, na geração final de gás (P), o que é explicado pelo tempo insuficiente do experimento (12 horas) para fermentação da glicose em temperaturas amenas. Entretanto, essa situação não altera o êxito da proposta de trabalho.

## 8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Após a realização deste trabalho, é extremamente palpável pensar em continuações do mesmo e continuar com o trabalho de inovação que foi até aqui realizado. Como sugestão para próximos experimentos, sugere-se que:

- a) realizar testes por mais tempo, principalmente em temperaturas amenas, a fim de executá-lo até que a fermentação se estabilize;
- b) utilizar sempre banho maria com recirculação de água, a fim de deixar a temperatura definitivamente uniforme nos reatores;
- c) utilizar substratos provenientes de atividades agroindustriais reais, como resíduos de suinocultura, indústria láctea, etc;
- d) construir aparelhagem fisicamente robusta. Até o presente momento, os sensores foram ligados em protoboards. Para a realização de trabalhos em larga escala, é importante que haja mais robustez física nos aparelhos que são extremamente frágeis;
- e) utilizar para calibração, uma seringa específica para gases, diminuindo assim, o erro atrelado ao experimento;
- f) realização de mais testes estatísticos, repetindo pontos e levando-se em conta também pontos axiais.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10004**: Classificação de resíduos sólidos. Rio de Janeiro, 2015

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZA PÚBLICA E RESÍDUOS ESPECIAIS. **Panorama dos resíduos sólidos no Brasil**. São Paulo, 2020.

ANDERSON, M. J.; WHITCOMB, P. J. Design of experiments. *In*: **ENCYCLOPEDIA of Chemical Technology**. Minneapolis, 2010.

<https://doi.org/10.1002/0471238961.0405190908010814.a01.pub3>.

ANGELIDAKI, I.; SANDERS, W. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. **Rev. Environ. Sci. Biotechnol**, v. 2, p. 117, 2004.

ANGELIDAKI, I. *et al.* Defining the biomethane potential: proposed protocol for batch assays. **Ver Water Science & Techonoly-WST**, v. 59, p. 927-934, 2009.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington, DC, 1992

ATKINSON, A. C; DONEV, A. N. **Optimum experimental designs**. Oxford: Clarendon, 1992.

BOFF, L. A enganosa proposta da COP-21. **ECO-21**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 229, p. 19, 2015.

BRASIL. Congresso Nacional. Lei 12.305 de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 2 ago. 2010. Seção 1. p. 1.

BRASIL. Congresso Nacional. Lei 14.026, de 15 de julho de 2020. Atualiza o marco legal do saneamento básico, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 16 jul. 2020. Seção 1. p. 1.

BRASIL. Congresso Nacional. Lei 13.576, de 26 de dezembro de 2017. Dispõe sobre a Política Nacional de Biocombustíveis (RenovaBio) e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 27 dez. 2017.

.BRASIL. Senado Federal. COP-21 deixará bons resultados, dizem senadores. **Jornal do Senado**. Brasília, 11 dez. 2015.

BUDIYONO, S. *et al.* Kinetic model of biogas yield production from vinasse at various initial pH: comparison between modified gompertz model and first order kinetic model. **Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology**, Semarang, n. 13, p. 2798-2805. 2014.

CABRAL, C. *et al.* **Tecnologias de digestão anaeróbia com relevância para o Brasil: Substratos, digestores e o uso de biogás**. Brasília: PROBIOGAS, 2015.

CAMPOS, J. R. *et al.* **Digestão anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento de biogás**. Vitória: PROSAB, 2003.

CAMPOS, J. R. *et al.* **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: PROSAB, 1999.

CAVAZZUTI, M. **Optimization methods: from theory to design scientific and technological aspects in mechanics**. Modena: Springer-Verlag, 2013. 262 p.

CHERNICHARO, C. A. de L. **Reatores anaeróbios**. 2. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2007.

CONFEDERAÇÃO NACIONAL DA INDÚSTRIA. **Pesquisa sobre economia circular 2019**. Brasília, 2020.

CONFEDERAÇÃO NACIONAL DA INDÚSTRIA. **Visão da indústria brasileira sobre a gestão de resíduos sólidos**. Brasília, 2014.

CONFERÊNCIA DAS NAÇÕES UNIDAS SOBRE MEIO AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO. **Agenda 21**. Rio de Janeiro, 1992.

ETUWE, C. N. *et al.* Development of mathematical models and application of the modified gompertz model for designing batch biogas reactors. **Waste Biomass Valor**, Port Harcourt, v. 7, p. 543–550, 2016.

GOMPERTZ, B. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Biological Sciences**, Londres, v. 115, p. 513–585, 1825.

GUWY, A. J. Equipment used for testing anaerobic biodegradability and activity. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, Pontypridd, v.3, p. 131–139, 2004.

HAFNER, S. D. *et al.* Improving inter-laboratory reproducibility in measurement of biochemical methane potential. **Water**, v. 12, n. 1752, 2020.

HANSEN, T. L. *et al.* Measurement of methane potentials of solid organic waste. **Waste Manage**, v. 24, n. 4, p. 393–400, 2003.

HARTLEY, H. O. The estimation of non-linear parameter by 'internal least squares'. **Biometrika**, v. 35, n. 1/2, p. 32–45, 1948.

HEERENKLAGE, J. S. R. Comparison of test systems for the determination of the gas potential from waste. *In: Proceeding Sardinia. Eight International Waste Management and Landfill Symposium*, Cagliari, 2001.

HILL, W. J.; HUNTER, W. G. American society for quality a review of response surface methodology. **Techonometrics**, v. 8, n. 4, p. 571–590, 1966.

HIMANSHU, H. *et al.* Factors controlling headspace pressure in a manual manometric BMP method can be used to produce a methane output comparable to AMPTS. **Bioresource Technology**, New York, n. 238, p. 633-642, 2017.

HOLM-NIELSEN, J.B. *et al.* The future of anaerobic digestion and biogas utilization. **Bioresource Technology**, New York, n. 100, p. 5478-5484, 2009.

IBGE. **Sistema de contas nacionais**. Brasília, 2020.

IBGE. **Indicadores IBGE**. Brasília, 2016.

IPEA. **O acordo de Copenhague e as decisões de Cancun no contexto da convenção do clima**. Brasília, 2011.

KAZA, S. **What a waste 2.0: a global snapshot of solid waste management to 2050**. Washington: World Bank Group, 2018.

KUNZ, A. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato**. Concórdia: Embrapa, 2019. 209 p.

KUNZ, A. *et al.* **Metodologia para estimar o potencial de biogás e biometano a partir de plantéis de suínos e bovinos no Brasil**. Concórdia: Embrapa, 2018. 52 p.

KUNZ, A. Tecnologias para o tratamento de resíduos de animais: biodigestão e compostagem. *In*: PALHARES, J. C. P. ed. **Gestão ambiental na agropecuária**. Brasília: Embrapa, 2014. p. 236-282.

LOEHR, R.C. **Agricultural waste management: problems, processes, and approaches**. New York: Academic Press, 1974. 576 p.

LÓPEZ, S. *et al.* Statistical evaluation of mathematical models for microbial growth. **International Journal of Food Microbiology**, p. 289–300. 2004.

MASSÉ, D. I. *et al.* The effect of temperature fluctuations on psychrophilic anaerobic sequencing batch reactors treating swine manure. **Bioresource Technology**, v.89, p. 57–62, 2003.

MATEUS, N. B. *et al.* Viability of center composite design. **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, v. 23, n. 6, p. 1537-1546, 2001.

MCENIRY, J. O'KIELY, P. Anaerobic methane production from five common grassland species at sequential stages of maturity. **Bioresource Techonology**, v. 1, n. 127, p. 143-150, 2012.

MCENIRY, J. *et al.* Grass for biogas production: The impact of silage fermentation characteristics on methane yield in two contrasting biomethane potential test systems. **Renewable Energy**, Cork, n. 63, p. 524-530, out. 2013.

MERKEL, A. J. **Managing livestock wastes**. Westport: Avi Publishing, 1981.

MIELE, M. *et al.* Tratamento dos efluentes de usinas de biogás. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, DF, v. 24, n. 1, p. 31-45, 2015.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. New York: Wiley, 1991.

MONTGOMERY, D. C; MYERS, R. H. **Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments**. New York: John Wiley, 1995.

NEVES, M. F. **Mapeamento da suinocultura brasileira**. Brasília: Gráfica Qualytá, 2016.

OLIVEIRA, P. A. V. **Manual de manejo e utilização dos dejetos de suínos.** Concórdia: Embrapa, 1993. 188 p.

OLIVEIRA, P. A. V. **Tecnologia para o manejo de resíduos na produção de suínos: manual de boas práticas.** Concórdia: Embrapa, 2004.

OLIVEIRA, P. A. V. *et al.* **Geração e utilização de biogás em unidades de produção de suínos.** Concórdia: Embrapa, 2006. 42 p.

OWEN, W. F, *et al.* Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. **Wat. Res**, Stanford, v. 13, p. 485–492, 1978.

PARK, G. J. **Analytic Methods for Design Practice.** Londres: Springer-Verlag, 2007.

PARKIN, G. F; OWEN, W. F. Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges. **Journal of Environmental Engineering**, v.112, n.5, p. 867–920, 1986.

RAPOSO, F. *et al.* Biochemical methane potential (BMP) of solid organic substrates: evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study. **Rev. J Chem Technol Biotechnol**, v. 86, p. 1088-1098, 2011.

RAUBER, M. E. “Apontamentos sobre a Política Nacional de Resíduos Sólidos, instituída pela Lei Federal 12.305.” **Revista Eletrônica Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 4, n. 4, p. 01-24, 2011.

RODRIGUES, M. I; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamentos.** Campinas: Casa do Pão, 2005.

ROVERE, E. L. L. O Brasil e a COP-21. **Cadernos Adenauer**, v. 17, n. 2, 2016.

SÃO PAULO (Cidade). Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente. **Agenda 21 local: Compromisso do Município de São Paulo / Grupo de Trabalho Intersecretarial**. 2. ed. rev. São Paulo, 1997. 165 p.

SCHIMIDT, J. E; AHRING, B. K. Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. **Biotech.**, v. 4. p. 229-246, 1996.

SHAMURAD, B. *et al.* Predicting the effects of integrating mineral wastes in anaerobic digestion of OFMSW using first-order and Gompertz models from biomethane potential assays. **Renewable Energy**, v.152. p. 308-319, 2020.

SIMÕES, A. L. G; OKAWA. C. M. P. Metodologias para a medição do biogás em sistemas anaeróbios. *In*: CONGRESSO SUL-AMERICANO DE RESÍDUOS SÓLIDOS E SUSTENTABILIDADE, 3., 2020. Gramado. **Anais [...]** Gramado: Instituto Brasileiro de Estudos Ambientais, 2020. p. 1-2.

SOUBES, M. Microbiologia de la digestion anaeróbia. *In*: SEMINARIO LATINOAMERICANO: TRATAMIENTO ANAERÓBIO DE AGUAS RESIDUALES, 3., 1994. Montevideo. **Anais [...]** Montevideo: Universidad de la República, 1994. p. 15-28.

SOUZA, C. F *et al.*, Biodigestão anaeróbia de dejetos de suínos sob efeito de três temperaturas e dois níveis de agitação do substrato. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 31., 2002. Salvador. **Anais [...]** Jaboticabal: UNESP, 2002. p. 102-108.

SOWERS, K. R. **Methanogenesis**. Baltimore: University of Maryland, 2009. p. 265-286.

STONER, P. M. Fitting the exponential function and the Gompertz function by the method of least squares. **Journal of the American Statistical Association**, Londres, v. 36, p. 515–518, 1941.

TJORVE, K. M. C; TJORVE. E. The use of Gompertz models in growth analyses, and new Gompertz-model approach: An addition to the Unified-Richards family. **PLoS ONE**, v. 12, n. 6, 2017.

UNITED NATIONS FRAMEWORK CONVENTION ON CLIMATE CHANGE. **Kyoto Protocol to the United Nations Framework**. [S.l.], 1998.

UNITED NATIONS FRAMEWORK CONVENTION ON CLIMATE CHANGE. **Adoption of the Paris Agreement, Decision**. [S.l.], 2015.

Van ELK; PEREIRA, A. G. H. **Mecanismo de desenvolvimento limpo: Aplicado a resíduos sólidos**. Rio de Janeiro: Ibam, 2007.

Van LIER; J. B; REBAC. S; LETTINGA. G. High rate anaerobic wastewater treatment under psychrophilic and thermophilic conditions. **Water Sci. Technol.**, v. 35, p. 199-206, 1997.

VON SPERLING, M. **Princípios básicos do tratamento de esgoto: princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. Belo Horizonte: ed. UFMG, 2007.

VON SPERLING, M; ANDREOLI, C. V; FERNANDES, F. **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: ed. UFMG, 2014. 484 p.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: ed. UFMG, 1995. 240 p.

ZINDER, S.H. Physiological ecology of methanogens. *In*: FERRY, J. G. (ed.). **Methanogenesis, ecology, physiology, biochemistry and genetics**. New York: Chapman and Hall, 1993.

ZWIETERING, M.H, *et al.* Modeling of the bacterial growth curve. **Appl. Env. Microbiol**, v. 56, n. 6, p. 1975–1981, 1990.